

## 总胆固醇 (total cholesterol, TC) 含量试剂盒说明书

(货号: ADS-W-ZF014 微板法 96 样)

### 一、产品简介:

总胆固醇 (TC) 包括游离胆固醇和胆固醇酯。是指组织中所有脂蛋白所含胆固醇之总和。

利用酯酶催化胆固醇酯水解生成游离胆固醇 (FC)，FC 在胆固醇氧化酶作用下被氧化生成 4-胆甾烯酮和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>；接着与 4-氨基氨替吡啉等反应生成红色醌类化合物，其在 510nm 处有特征吸收峰，通过检测 510nm 处吸光值即可得出 TC 含量。

### 二、试剂盒的组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉体 1 支	-20°C 保存	临用前加入 5mL 蒸馏水
试剂二	液体 20mL×1 瓶	4°C 保存	
标准品	粉体 1 支	4°C 保存	临用前加入 1mL 无水乙醇充分溶解，标准品浓度为 5.17mmol/L。

### 三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、可调式移液枪、水浴锅、乙醇、离心机、研钵、蒸馏水。

### 四、总胆固醇 (TC) 含量测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

#### 1、样本制备:

##### ① 组织样本:

称取约 0.1g 组织样本加入研钵中，加入 1mL 乙醇，进行冰浴匀浆，12000rpm, 4°C 或室温离心 10min，取上清液待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量 (g) : 提取液(mL) 为 1: 5~10 的比例进行提取。

##### ② 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 乙醇，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000rpm 4°C 离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量 (10<sup>4</sup>) : 提取液 (mL) 为 500~1000: 1 的比例进行提取。

##### ③ 液体样本：澄清的液体样本直接测定，若浑浊则离心后取上清检测。

#### 2、上机检测:

① 酶标仪预热 30 min，调节波长到 510 nm。

② 所有试剂解冻至室温 (25°C)，在 96 孔板中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	标准管 (仅做一次)	空白管 (仅做一次)
样本	2.5		
标准品		2.5	
蒸馏水			2.5
试剂一	50	50	50
试剂二	200	200	200
混匀，37°C 孵育 10min，于 510nm 处读取各管吸光值 A。			

【注】1.若测定管的 A 值大于 1，则需将组织或细胞样本用乙醇进行稀释（若是液体样本如血清需用生理盐水或 PBS 或蒸馏水稀释），稀释倍数 D 需代入公式重新计算。

2.若 A 测定管值低于空白管，可增加样本加样体积 V1（如增至 5μL 或更多，则试剂一、试剂二保持不变，标准品仍为 2.5μL，额外加 2.5μL 蒸馏水补齐）；或增加样本取样质量 W（如增至 0.2g 或更多），则改变的 V1 和 W 则代入公式重新计算。

## 五、结果计算：

### 1、按样本质量计算：

$$\begin{aligned} \text{TC}(\mu\text{g/g 重量}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times \text{Mr} \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (\text{W} \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} \\ &= 1998.7 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{W} \times \text{D} \end{aligned}$$

### 2、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{TC}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (500 \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} \\ &= 4 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times \text{D} \end{aligned}$$

### 3、液体中 TC 含量计算：

$$\begin{aligned} \text{TC}(\mu\text{g/mL}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times \text{Mr} \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{V1} \times \text{D} \\ &= 1998.7 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times \text{D} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{TC}(\text{mmol/L}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{V1} \times \text{D} \\ &= 5.17 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times \text{D} \end{aligned}$$

C 标准---5.17mmol/L;

Mr=386.6---胆固醇分子量；

V1---样本加入体积, 0.0025mL;

V2---标准品加入体积, 0.0025mL;

V---提取液体积, 1mL;

D---稀释倍数, 未稀释即为 1;

500---细胞数量, 万;

W---样本取样质量, g。