

Total Cholesterol Content Assay Kit

总胆固醇(TC)含量测定试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1845B	总胆固醇(TC)含量测定试剂盒 微板法	96T

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_2O_2 ；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。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	25mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	1mL×1 支	4°C保存	标准品浓度为 5.17mmol/L

使用方法:

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！

一、样本准备

1. 组织样本:

- 称取约 0.1g 组织，加入 1mL 无水乙醇，进行冰浴匀浆；
- 12000rpm，4°C离心 10min，取上清，置冰上待测。

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

2. 细胞/细菌样本:

- 先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；
- 取 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 无水乙醇，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，按照每 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 个细菌/细胞加入 1mL 无水乙醇进行提取。

3. 液体样本:

直接检测；若浑浊，离心后取上清检测。

二、样品测定

- 酶标仪预热 30 min，调节波长到 510 nm。
- 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	250	250	250
混匀，37°C孵育 10min，于 510nm 处读取各管吸光值 A。			

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



- 【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 5 μ L 或更多, 则试剂一保持不变, 标准品仍为 2.5 μ L, 额外加 2.5 μ L 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。
3.若样本自身颜色为红色, 也可增设一个样本自身对照(即 2.5 μ L 样本+250 μ L 蒸馏水); 混匀, 37 $^{\circ}$ C 孵育 10min, 510nm 读取吸光值 A, (A 测定-A 对照)代入公式计算。

三、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

V---提取液体积, 1mL

V2---标准品加入体积, 0.0025mL

V1---样本加入体积, 0.0025mL

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

注意事项:

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

4 $^{\circ}$ C保存六个月。

