

## 总胆固醇(TC)检测试剂盒(COD-PAP 单试剂比色法)

### 产品简介

胆固醇(Cholesterol)又称胆甾醇，是一种环戊烷多氢菲的衍生物，广泛存在于动物体内，其中脑、神经组织最丰富，在肾、脾、皮肤、肝和胆汁中含量也较高，用酶学方法测定总胆固醇(Total Cholesterol, TC)是生化检测中的常用方法，其特点是：1、灵敏度、准确度、精密度均高；2、使用温和的反应条件；3、操作简便；4、适用于自动分析仪。

总胆固醇(TC)检测试剂盒(COD-PAP 单试剂比色法)又称胆固醇氧化酶法或胆固醇氧化酶-过氧化物酶偶联法等，血液中的胆固醇约 1/3 为游离胆固醇，2/3 为与脂肪酸结合的胆固醇酯，后者被胆固醇酯酶(CEH)水解为游离胆固醇，游离胆固醇被胆固醇氧化酶(COD)氧化成胆甾烯酮，并产生过氧化氢，再经过氧化物酶(POD)催化，使 4-氨基安替比林与酚(三者合称 PAP)反应，生成红色醌亚胺色素(Trinder 反应)，分光光度计在 500~520nm 处进行比色测定，用于人或动物的血清、血浆、脑脊液、细胞、组织等样本中的总胆固醇含量定量测定。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成

| 名称                        |               | 编号 | ADS119TC0<br>100T | Storage  |
|---------------------------|---------------|----|-------------------|----------|
| 试剂(A):<br>COD-PAP<br>工作液  | Good's Buffer |    | 2×50ml            | -20°C 避光 |
|                           | 胆固醇氧化酶        |    |                   |          |
|                           | 胆固醇激酶         |    |                   |          |
|                           | 过氧化物酶         |    |                   |          |
|                           | 4-氨基安替比林      |    |                   |          |
|                           | 稳定剂           |    |                   |          |
| 试剂(B): TC 标准(5mmol/L)     |               |    | 1ml               | -20°C 避光 |
| 试剂(C): ddH <sub>2</sub> O |               |    | 1ml               | RT       |
| 使用说明书                     |               |    | 1 份               |          |

### 自备材料

- 1、生理盐水或 PBS
- 2、离心管、小试管或 96 孔板、水浴锅或恒温箱、分光光度计或酶标仪、全自动或半自动生化分析仪

### 操作步骤(仅供参考)

- 1、样本处理：

①血清、血浆、脑脊液样本：从待测样本中分离出的血清或血浆不应有溶血，直接检测，如超过线性范围，用生理盐水稀释后检测。

②细胞样本：

a.取适量的细胞(一般推荐 $>10^6$  以上)，1000g 离心 10min，弃上清，留取沉淀。b.

用 PBS 或生理盐水清洗 1~2 次，1000g 离心 10min，弃上清，留取沉淀。

c.加入 200~300 $\mu$ l 的 PBS 或生理盐水匀浆，冰浴条件下超声破碎细胞，功率 300W，每次 3~5s，间隔 30s，重复 3~5 次，亦可手动匀浆，制备好的匀浆液不可离心；亦可用 1~2% Triton X-100 冰浴 30~60min，制备好的裂解液不可离心。

③组织样本：准确称取适量组织样本，按质量(g)：生理盐水或 PBS(ml)=1：9 的比例，加入生理盐水或 PBS，冰浴条件下手动或机械匀浆，2500~3000g 离心 10min，取上清。

## 2、TC 测定

| 酶标仪、全自动生化分析仪 TC 测定 |     |     |     |
|--------------------|-----|-----|-----|
| 加入物( $\mu$ l)      | 空白孔 | 标准孔 | 待测孔 |
| ddH <sub>2</sub> O | 3   | -   | -   |
| TC 标准(5mmol/L)     | -   | 3   | -   |
| 待测样本               | -   | -   | 3   |
| COD-PAP 工作液        | 300 | 300 | 300 |

| 分光光度计(1ml 比色杯)、半自动生化分析仪 TC 测定 |      |      |      |
|-------------------------------|------|------|------|
| 加入物(ml)                       | 空白管  | 标准管  | 待测管  |
| ddH <sub>2</sub> O            | 0.01 | -    | -    |
| TC 标准(5mmol/L)                | -    | 0.01 | -    |
| 待测样本                          | -    | -    | 0.01 |
| COD-PAP 工作液                   | 1    | 1    | 1    |

| 普通分光光度计(2ml 比色杯)TC 测定 |      |      |      |
|-----------------------|------|------|------|
| 加入物(ml)               | 空白管  | 标准管  | 待测管  |
| ddH <sub>2</sub> O    | 0.02 | -    | -    |
| TC 标准(5mmol/L)        | -    | 0.02 | -    |
| 待测样本                  | -    | -    | 0.02 |
| COD-PAP 工作液           | 2    | 2    | 2    |

①各种仪器按上表依次加入试剂，充分混匀，37℃水浴中孵育 5min。

②立即用相应仪器测定 500~520nm 吸光度，以空白孔(管)调零，读取标准孔(管)、测定孔(管)的吸光度，分别记为 $A_{标准}$ 、 $A_{测定}$ 。

**机器参数:**

|         |           |
|---------|-----------|
| 主波长/次波长 | 500/600nm |
| 反应类型    | 终点法       |
| 反应方向    | 升反应(+)    |

**计算公式**

**血清、血浆等液体样本(空白调零):**

$$FC(\text{mmol/L}) = A_{\text{测定}}/A_{\text{标准}} \times 5$$

**血清、血浆等液体样本(全自动生化分析仪):**

$$FC(\text{mmol/L}) = (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}})/(A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times 5$$

**组织样本(空白调零):**

$$FC(\text{mmol/g}) = A_{\text{测定}}/A_{\text{标准}} \times 5 \times V_2/(m \times 1000)$$

**组织样本(全自动生化分析仪):**

$$FC(\text{mmol/g}) = (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}})/(A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times 5 \times V/(m \times 1000)$$

**细胞样本(空白调零):**

$$FC(\text{mmol/L}) = A_{\text{测定}}/A_{\text{标准}} \times 5 \times V_2/V_1$$

**细胞样本(全自动生化分析仪):**

$$FC(\text{mmol/L}) = (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}})/(A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times 5 \times V_2/V_1$$

式中: m=组织样本取样量 (g)

V<sub>1</sub>=细胞样本取样量 (ml)

V<sub>2</sub>=样本匀浆液总体积 (ml)

**参考区间:**

健康成年人**理想范围**: <5.2mmol/L(<200mg/dl)

**边缘升高**: <5.23~5.69mmol/L(201~219mg/dl)

**升高**: ≥5.72mmol/L(≥220mg/dl)

备注: TC 标准(5mmol/L)=442.48mg/dl

## 性能指标

|       |                                                                      |
|-------|----------------------------------------------------------------------|
| 外观    | 无色至淡黄色澄清液体                                                           |
| 线性范围  | 0.1~13mmol/L(3.6~500mg/dl), $R^2 > 0.95$                             |
| 灵敏度   | 检测下限 0.1mmol/L(3.6mg/dl)                                             |
| 变异系数  | 批内<3%, 批间<5%                                                         |
| 空白吸光值 | <0.1(1cm 光径)                                                         |
| 干扰因素  | 胆红素 < 410 $\mu$ mol/L ; 血红蛋白 < 7g/L ; 甘油三酯 < 28.5mmol/L 时, 对结果无明细影响。 |

## 注意事项

- 1、上述低温试剂避免反复冻融, 以免失效或效率下降。
- 2、COD-PAP 工作液如不经常使用, 应充分溶解后分装-20℃保存, 可 4℃短期保存。
- 3、本法可直接用于检测脑脊液中的 TC 含量, 但不能直接检测尿液中的 TC 含量, 因为未经处理的尿液中含有还原性物质, 影响过氧化物酶反应。
- 4、检测 TC 的血清或血浆宜用 EDTA 或肝素抗凝, 如不能及时测定, 密闭保存, 4℃可稳定 1 周, -20℃可以稳定半年以上。
- 5、本法线性范围可达 13mmol/L, 如果样本 TC 浓度过高, 结果可能呈假性降低, 应用生理盐水稀释后重测, 结果乘以稀释倍数。
- 6、该试剂盒既可作终点法检测, 又可作速率法检测。
- 7、本法不适于检测游离胆固醇的浓度。
- 8、试剂开封后请尽快使用, 以防影响后续实验效果。

**有效期:** 6个月; 低温运输, 按要求保存。