

## 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 有效期：6 个月）

### 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	液体 10mL×1 瓶	4°C避光保存	
试剂二	液体 10mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉剂 1 支	4°C避光保存	1. 临用前 8000g 4°C离心 2min 使试剂落入管底； 2. 加 0.1ml 蒸馏水，现配现用，配成标准品浓度见标签

### 三、实验器材：

研钵（匀浆机）、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、96 孔板、离心管、酶标仪、无水乙醇、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

### 四、指标测定：

建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

#### 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（或等待仪器过自检程序亦可），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	3		
标准品		3	
蒸馏水			3
试剂一	100	100	100

试剂二	100	100	100
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或差值小于 0.01 可增加样本加样体积 V1（如增至 6 μL 或更多，则试剂二保持不变，试剂一相应减少，例如样本加 6μL，试剂一额外减少 3 μL）；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：

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

2、按蛋白浓度计算：

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

3、按细胞数量计算：

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

4、液体中 TC 含量计算：

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

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

C 标准---浓度见标签；

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。

Cpr---上清液蛋白质浓度，mg/mL；建议使用本公司的 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。