

总胆固醇(TC)含量检测试剂盒说明书

Total Cholestenone Content Assay Kit

分光光度法

货号：AK258

规格：50T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
AK258-提取液(异丙醇)	50mL(自备)	4℃保存
AK258-A(工作液)	50mL×1 瓶	4℃避光保存
AK258-标准品	1mL×1 支	4℃避光保存

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

意义：总胆固醇(TC)是指血清中各种脂蛋白所含的胆固醇，即结合胆固醇和游离胆固醇的总和。血清中的胆固醇基本上是以结合状态存在于脂蛋白中，所以它主要代表结合的胆固醇，无法反映各种脂蛋白的多少，也就不能够确切地反映高密度脂蛋白胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇的多少。

原理：利用酯酶催化胆固醇酯水解生成游离胆固醇(FC)和游离脂肪酸(FFA)，从而把胆固醇酯转化为FC；进一步利用胆固醇氧化酶催化FC氧化，生成 Δ^4 -胆甾烯酮和 H_2O_2 ；最后利用过氧化物酶催化 H_2O_2 氧化4-氨基安替比林和酚，生成红色醌类化合物；在500nm有特征吸收峰，其颜色深浅与TC含量成正比。

自备用品：

可见分光光度计、1ml玻璃比色皿、天平、水浴锅、离心机、可调式移液枪、蒸馏水、异丙醇。

总胆固醇提取：

1. 组织中TC的提取：按照组织质量(g)：异丙醇体积(mL)为1：5~10的比例(建议称取约0.1g组织，加入1mL异丙醇)进行冰浴匀浆，10000g 4℃离心10min，取上清置冰上待测。
2. 细胞、细菌中TC的提取：先收集500万细胞或细菌到离心管内，弃上清，加1mL异丙醇，超声波破碎3min(功率300w，超声2s，停3s)，10000g 4℃离心10min，取上清置冰上待测。
3. 血清(浆)等样品：直接测定。

测定步骤：

1. 可见分光光度计预热30min，调节波长到500nm，蒸馏水调零。
2. 按下表依次加入下列试剂：

试剂名称	标准管(μl)	测定管(μl)	空白管(μl)
样本		100	
标准液	100		
提取液			100
工作液	900	900	900

充分混匀，37℃静置15min，反应完成后测定500nm处吸光值A，分别记为A测定管、A标准管和A空白管， $\Delta A(A1)=A$ 测定管-A空白管， ΔA 标准(A2)=A标准管-A空白管。
注意：空白管只需测定1-2次。

TC 计算公式：

1. 血清（浆）中 TC 含量计算：

$$TC \text{ (mmol /L)} = A1 \div A2 \times C \text{ 标准液}$$

2. 组织、细胞中 TC 含量计算：

- (1) 按样本蛋白浓度计算

$$TC \text{ (mmol / g prot)} = A1 \div A2 \times C \text{ 标准液} \div Cpr$$

- (2) 按样本质量计算

$$TC \text{ (mmol / g 组织)} = A1 \div A2 \times C \text{ 标准液} \div W$$

C 标准液：5 mmol/L；样本蛋白浓度 Cpr, g prot/L；样本质量 W, g/L

注意事项：

1. 标准品为醇溶性试剂，易挥发，96 孔板操作时尽量在加完样本后加标准品，且标准孔优先加入工作液以降低标准品的挥发，从而降低偏差。
2. 试剂应防止葡萄糖、胆固醇等试剂的污染。
3. 用提取液提取后的上清不能用于蛋白浓度测定；如需测定蛋白浓度，需另取组织。