

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

### 微量法 100T/96S

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

#### 测定意义:

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

#### 测定原理:

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 $\Delta^4$ -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。

#### 组成:

产品名称	FA022-100T/96S	Storage
试剂一：异丙醇（自备）	100ml	--
试剂二：液体	20ml	4°C
试剂三：粉剂	1 瓶	4°C
试剂四：液体	40 $\mu$ l	4°C
TC 标准品：液体	1ml	4°C
说明书	一份	

TC 标准品：液体 1ml $\times$ 1 支，0.5 $\mu$ mol/ml，4°C 保存。

#### 自备仪器和用品:

水浴锅、可调式移液枪、酶标仪、96 孔板。

#### TC 的提取:

- 1、组织中 TC 的提取：按照组织质量 (g)：试剂一体积(ml)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1ml 试剂一）进行冰浴匀浆，8000g 4°C 离心 10min，取上清，即 TC 待测液。
- 2、细胞、细菌中 TC 的提取：先收集 400-500 万细胞或细菌到离心管内，弃上清，加 1ml 试剂一，超声波破碎 1min（强度 20%，超声 2s，停 1s），即 TC 待测液。
- 3、血清（浆）等样品：直接测定。

#### 测定操作:

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



1. 酶标仪预热 30 min，调节波长到 500 nm。
2. **TC 工作液的配制**：临用前，吸取约 0.8ml **试剂二**分别加入**试剂三**和**试剂四**瓶中，充分溶解后再全部转移回**试剂二**瓶中，充分混匀，TC 工作液置于 37°C水浴 10min。用不完的工作液 4°C保存一周。
3. 标准管：依次在 96 孔板中加入 **20μl FC 标准液**和 180μl TC 工作液，混匀，37°C静置 3h 后于 500nm 测定 A 标准管。
4. 测定管：依次在 96 孔板中加入 **20μl FC 待测液**和 180μlTC 工作液，混匀，37°C静置 3h 后于 500nm 测定 A 测定管。
5. 空白管：依次在 96 孔板中加入 **20μl 试剂一**和 180μlTC 工作液，混匀，37°C静置 3h 后于 500nm 测定 A 测定管。

**注意：标准管和空白管只需测定一次。**

### 计算公式：

1. 血清（浆）中 TC 含量计算：

$$\text{TC } (\mu\text{ mol / dL}) = \text{C 标准液} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \times 100 \\ = 50 \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})$$

C 标准液：0.5μmol/ml；100 ml：1dL=100 ml。

2. 组织中 TC 含量计算：

(1)按样本蛋白浓度计算

$$\text{TC } (\mu\text{ mol / mg prot}) = \text{C 标准液} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{Cpr} \\ = 0.5 \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{Cpr}$$

(2)按样本质量计算

$$\text{TC } (\mu\text{ mol / g 鲜重}) = \text{C 标准液} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{W} \\ = 0.5 \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{W}$$

C 标准液：0.5μmol/ml；样本蛋白浓度，mg/ml；W：样本质量，g/ml

3. 细胞、细菌中 TC 含量计算：

$$\text{TC } (\mu\text{ mol / } 10^4 \text{ cell}) = \text{C 标准液} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{细菌或细胞 } (10^4 \text{ cell / L}) \\ = 0.5 \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{细菌或细胞 } (10^4 \text{ cell / L})$$

C 标准液：0.5μmol/ml。

最低检出限为 1nmol/ml。

