

总胆固醇（TC）比色法测试盒（COD-PAP 法）

Total Cholesterol(TC) Colorimetric Assay Kit(COD-PAP Method)

货号: K086

规格: 48T(32S)/ 96T(80S)

检测仪器: 酶标仪(540 nm)

适用种属: Universal

应用: 用于定量检测检测血清（浆）、组织的总胆固醇含量。

储存条件: 2-8°C 避光保存 6 个月

保质期: 见试剂盒标签

注: 仅供科研使用

试剂盒组件:

| 编号 | 名称 | 规格 1 48T | 规格 2 96T | 储存条件 |
|-----|--|-------------|-------------|-----------------|
| 试剂一 | 酶溶液 1 (Enzyme Solution 1) | 10mLx1 瓶 | 20 mLx1 瓶 | 2-8°C 避光保存 6 个月 |
| 试剂二 | 酶溶液 2 (Enzyme Solution 2) | 5 mLx1 瓶 | 10 mLx1 瓶 | 2-8°C 避光保存 6 个月 |
| 试剂三 | 5.17 mM 胆固醇标准品 (Cholesterol Standard) | 0.2 mLx1 管 | 0.2 mLx1 管 | 2-8°C 保存 6 个月 |

说明: 试剂严格按上表中的保存条件保存, 不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂, 使用前请先离心, 以免量取不到足够量的试剂。

实验原理

总胆固醇(Total Cholesterol, TC)包括游离胆固醇和胆固醇酯。胆固醇酯可被胆固醇酯酶(cholesterol esterase, CE)水解成胆固醇和游离脂肪酸, 胆固醇在胆固醇氧化酶(cholesterol oxidase, CO)的氧化作用下生成 Δ^4 -胆甾烯酮和过氧化氢。过氧化氢在 4-氨基安替吡啉和色原底物存在时, 经过氧化物酶(peroxidase, POD)催化, 反应生成有色化合物, 其颜色深浅与 TC 含量成正比。

试剂盒组件外所需器材和试剂

1. 酶标仪(540 nm)
2. 96 孔板
3. 精密的移液器以及干净的一次性枪头
4. 干净的 EP 管
5. 异丙醇, 生理盐水, 双蒸水
6. 台式离心机
7. 恒温水浴/培养箱

样品处理

- 样本要求：样本中不能添加还原性物质，如抗坏血酸、谷胱甘肽等。
- 血清血浆等液体样本：可直接测定。
- 组织样本：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。

在正式检测前，需选择 2-3 个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.2-25.85 mmol/L，可参考下表进行稀释(仅供参考)：

| 样本 | 稀释倍数 | 样本 | 稀释倍数 |
|------|------|----------|------|
| 人血清 | 不稀释 | 小鼠血清 | 不稀释 |
| 大鼠血清 | 不稀释 | 10%小鼠肾组织 | 不稀释 |

注：血清（浆）稀释液为生理盐水(0.9% NaCl)；组织样本的稀释液为异丙醇。

试剂准备

- 1、检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。
- 2、酶工作液的配制：

将试剂一：试剂二按 2：1 的体积比混匀，现用现配。

测定步骤

- 1、标准孔：取 3 μL 标准品，触底加入标准孔中；
样本孔：取 3 μL 待测样本，触底加入样本孔中；
空白孔：取 3 μL 异丙醇，触底加入空白孔中。
- 2、向步骤 1 中各孔加入 300 μL 酶工作液。
- 3、37℃孵育 15 min。酶标仪 540 nm，测各孔 OD 值。

操作表

| | 空白孔 | 标准孔 | 样本孔 |
|-----------------------------------|-----|-----|-----|
| 异丙醇(μL) | 3 | | |
| 标准品(μL) | | 3 | |
| 待检样本(μL) | | | 3 |
| 酶工作液(μL) | 300 | 300 | 300 |
| 37℃孵育 15 min，酶标仪 540 nm，测各孔 OD 值。 | | | |

结果计算

血清(浆)等液体样本中 TC 含量计算公式:

$$\text{TC 含量 (mmol/L)} = \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times c \times f$$

组织中 TC 含量计算公式:

$$\text{TC 含量 (mmol/kg wet weight)} = \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times c \times f \div \frac{m}{V}$$

注释:

ΔA_1 : 样本 OD 值-空白 OD 值

ΔA_2 : 标准 OD 值-空白 OD 值

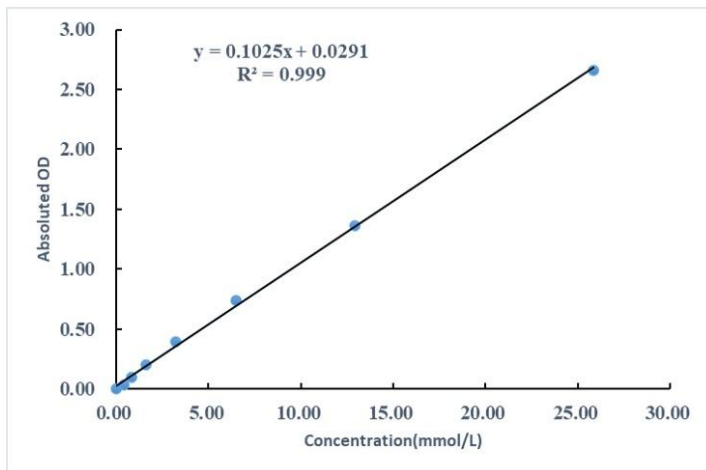
f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

c: 标准品浓度 (5.17 mmol/L)

m: 组织样本质量 (g)

V: 组织样本匀浆液体积 (mL)

标准曲线(数据仅供参考)



注意事项

- 1、试剂盒仅供研究使用。实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
- 2、试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
- 3、最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对由于使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。