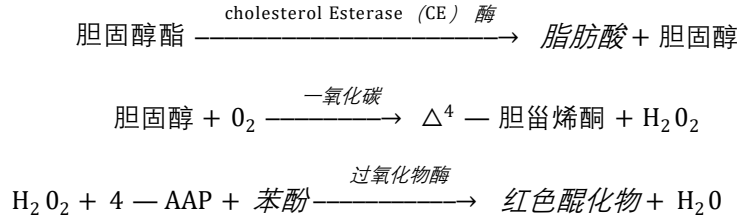


总胆固醇 (TC/TCH) 检测试剂盒

(货号: BC007 COD-PAP法 微板法 96T)

一、测定意义及原理



使用 500nm 波长进行比色, 生成的醌类化合物颜色的深浅与胆固醇的含量成正比, 分别测定标准管和样本管的吸光度值, 计算胆固醇的含量。

二、试剂组成及配制 (96T)

试剂组成	规格	组份	浓度	保存条件
工作液 (酶)	25mL*1 瓶	Good's 缓冲液	50mmol/L, pH6.7	2—8°C 避光
		苯酚	5mmol/L	
		4-AAP	0.3mmol/L	
		胆固醇酯酶	≥50KU/L	
		胆固醇氧化酶	≥25KU/L	
		过氧化物酶	≥1.3KU/L	
		牛血清白蛋白	1g/L	
		叠氮钠	1g/L	
标准品	1 支	胆固醇	见标签	
附送 96 孔平底酶标板一块				室温放置

三、操作过程:

1、样本处理:

①、血清 (浆): 直接测定, 如超过线性范围用生理盐水稀释后测定。
 ②、培养液样本: 吸取培养液, 1000 转/分, 离心 10 分钟, 取上清测定。 [注]: 一般建议细胞密度在 100 万个/mL 以上。

③、组织样本: 准确称取组织重量,按重量 (g): 体积 (mL) =1: 9 的比例, 加入 9 倍体积的匀浆介质, 冰水浴条件下机械匀浆, 2500 转/分, 离心 10 分钟, 取上清液待测。 [注]: 如组织样本为非高脂样本, 匀浆介质用磷酸盐缓冲液 (0.1mol/L pH 7.4) 或生理盐水 (0.9%) 进行提取: 如组织样本为高脂样本或部分为高脂样本, 匀浆介质可统一用无水乙醇进行提取。

④、细胞样本:

A、细胞收集: 将制备好的细胞悬液取出, 1000 转/分, 离心 10 分钟, 弃上清液, 留细胞沉淀; 用等渗缓冲液 (推荐 0.1mol/L、pH7—7.4 磷酸盐缓冲液) 清洗 1—2 次, 同样 1000 转/分, 离心 10 分钟, 弃上清液, 留细胞沉淀;

B、细胞破碎:加入 0.2—0.3mL 的匀浆介质 (推荐 0.1mol/L、pH7—7.4 磷酸盐缓冲液或生理



盐水) 进行匀浆, 冰水浴条件下超声破碎 (功率 :300 W, 3 ~5 秒/次, 间隔 30 秒, 重复 3~5 次) 或手动匀浆, 制备好的匀浆液不离心直接测定。也可采用裂解液裂解 (推荐 TritonX-100, 1-2%,裂解 30~40 分钟), 裂解好的液体不离心直接测定。 [注] :建议细胞密度在 100 万个/mL 以上。破碎好的液体可显微镜观察细胞是否破碎完全

2, 操作表:

	空白孔	标准孔	样本孔
双蒸水 (μl)	2.5		
标准品 (μl)		2.5	
样本 (μl)			2.5
工作液 (μl)	250	250	250

震荡孔板混匀, 37°C 孵育 10 分钟, 波长 500nm, 酶标仪测定各孔吸光度值。

四: 计算公式:

1、血清等液体计算公式:

$$\text{胆固醇含量 (mmol/L)} = \frac{\text{样本OD值} - \text{空白OD值}}{\text{标准品OD值} - \text{空白OD值}} \times C_{\text{标准}}$$

$C_{\text{标准}}$: 标准品浓度, mmol/L (具体浓度见标签)。

例 1、取正常人血浆 2.5μL, 按操作表操作, 得空白孔吸光度 0.0443, 标准孔吸光度 0.2344, 样本孔吸光度 0.1724, 则计算如下:

$$\text{胆固醇含量 (mmol/L)} = \frac{0.1724 - 0.0443}{0.2344 - 0.0443} \times 5.17 = 3.4838 \text{ mmol/L}$$

例 2、取大鼠血清 2.5μL, 按操作表操作, 得空白孔吸光度 0.0443, 标准孔吸光度 0.2344, 样本孔吸光度 0.1011, 则计算如下:

$$\text{胆固醇含量 (mmol/L)} = \frac{0.1011 - 0.0443}{0.2344 - 0.0443} \times 5.17 = 1.5447 \text{ mmol/L}$$

2、组织、细胞计算公式:

①、用 PBS 或生理盐水作匀浆介质提取样本计算方法 (此方法需要另外测定匀浆液蛋白浓度 BC016) :

$$\text{胆固醇含量 (mmol/Jprot)} = \frac{\text{样品OD值} - \text{空白OD值}}{\text{标准品OD值} - \text{空白OD值}} \times C_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}$$

$C_{\text{标准}}$: 标准品浓度, mmol/L (具体浓度见标签)。

C_{pr} : 待测组织样本匀浆蛋白浓度, gprot/L。(prot 指蛋白) 测定蛋白浓度的试剂盒推荐使用货号为 (BC016)

②、用无水乙醇作匀浆介质提取样本计算方法 (此方法不需要另外测定匀浆液蛋白浓度) :



$$\text{胆固醇含量 (mmol/J组织)} = \frac{\text{样品OD值}-\text{空白OD值}}{\text{标准品OD值}-\text{空白OD值}} \times C_{\text{标准}} \div \frac{w}{V_{\text{乙醇}}}$$

W: 组织重量 (g) ;

V 乙醇: 加入的提取液 (乙醇) 的总体积, L。

注: 如样本中含有高脂样本, 建议用乙醇来提取。

细胞样本测定时可將上式中的 $\frac{w}{V_{\text{乙醇}}}$ 替换为细胞前处理时的细胞密度。

例: 取 10%小鼠肝匀浆 2.5 μ l, 按操作表操作, 得空白孔吸光度 0.0452, 标准孔吸光度 0.2350, 样本孔吸光度 0.1038, 同时测得 10%小鼠肝匀浆蛋白浓度为 12.0121gprot/L, 则计算如下:

$$\text{胆固醇含量 (mmol/Jprot)} = \frac{0.1038-0.0452}{0.2350-0.0452} \times 5.17 \div 12.0121 = 0.1329 \text{ mmol/Jprot}$$

五、产品描述:

本试剂盒采用 COD-PAP 法配制, 用于体外测定胆固醇含量。适用于各型酶标仪。

六、性能指标:

- 1、试剂空白管吸光度 ≤ 0.100 (光径 0.5cm)。
- 2、线性范围: 0—19.39mmol/L 范围内, $r^2 > 0.995$ 。
- 3、准确度: 相对偏差 $\leq 10\%$ 。
- 4、灵敏度: 测试 2.26mmol/L 被测物时, 吸光度值 ΔA 在 0.1600—0.2300 之间。
- 5、重复性: 测量精密度 $\leq 3.0\%$, 批间差 $\leq 5.0\%$ 。
- 6、稳定性: 原包装试剂盒在 2°C-8°C 避光保存, 有效期为 12 个月。开启后 2°C-8°C 避光可稳定 3 个月。

七、注意事项:

- 1、本产品仅用于科研, 不得用于临床诊断, 切勿服用。
- 2、样品含量如超出检测范围上限时, 可用生理盐水稀释样本后进行测定, 测定结果乘以稀释倍数。
- 3、试剂防止葡萄糖、胆固醇等试剂的污染。
- 4、试剂与样本量可按照全自动生化分析仪的要求, 按照 1: 100 的比例增减。
- 5、标准品为醇溶性试剂, 打开后易挥发, 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。

