

总胆固醇(TC)含量检测试剂盒

检测意义及原理：

总胆固醇（Total Cholesterol, TC）是血液中各类胆固醇的总和，包括游离胆固醇和胆固醇酯。游离胆固醇（Free cholesterol, FC）是指在血液中呈现非酯化的游离状态的胆固醇；胆固醇酯是由胆固醇分子与脂肪酸结合而成，是胆固醇的储存和运输形式，这种结构使其更稳定且疏水性更强，便于在血液中通过脂蛋白运输、或在细胞内储存，避免了游离胆固醇的毒性。胆固醇是广泛存在于动物体内的一种环戊烷多氢菲衍生物，可作为合成肾上腺皮质激素、性激素、胆汁酸及维生素 D 等生理活性物质的重要原料，也是构成细胞膜的主要成分。总胆固醇的测定，对于研究脂代谢和临床上评估心血管疾病风险意义重大。

本试剂盒采用可见光比色法在酶标板上操作，标准品和待测样品中的总胆固醇与显色液发生反应，在 504nm 处测 OD 值，总胆固醇含量与此 OD 值成正比，可通过绘制标准曲线求出样品中总胆固醇浓度。

试剂盒特点：

- 灵敏度高**：本试剂盒采用最新方法改良配方，可以检测到低至 0.1mmol/L 的总胆固醇含量。
- 特异性强**：本试剂盒基于最新科研成果研发，具有对总胆固醇的检测高度专一、不受其他因素影响的優勢。
- 简单快速**：37℃ 条件，10~15min 内即可完成。
- 大通量操作**：本试剂盒反应敏感度适中，实验结果稳定，不会出现因为 2~3min 之时间差导致前后加样各组实验结果变化很大的情况。因此可一批次操作多个样本，从而提升实验效率。

试剂盒组分：（保存：-20℃避光，有效期：1年）

名 称	规格（48 T）	规格（96 T）
微孔板	8×6条	8×12条
胆固醇标准品	1mL	1mL
提取液（异丙醇）	50mL	100mL
显色液	10mL	20mL
产品说明书	1份	1份

本试剂盒适用于血清、血浆、组织匀浆、细菌、细胞培养上清及其它样本。

需要自备试剂和器材：

- 酶标仪、离心机、移液器、天平、制冰机及实验室常规仪器。
- 多种规格单通道移液器或 8 通道移液器。
- 不同规格的试管和离心管，加样槽。
- 漩涡混匀器。
- 去离子水或蒸馏水。

标本收集：

- 组织标本：**按照动物组织质量（g）：提取液mL为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液），进行冰浴匀浆。8000rpm 4℃离心10min，取上清置于冰浴中待测。
- 细菌或细胞标本：**按照细胞数量（ 10^4 个）：提取液体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细胞加入1mL提取液）加入提取液，冰浴超声波破碎细胞（功率300w，超声2秒，间隔3秒，总时间3min）；震荡提取15min，然后8000rpm 4℃离心10min，取上清置于冰浴中待测。
- 血清等液体标本：**直接测定。

备注：待测样本应尽早检测，2~8℃保存48小时；更长时间须冷冻（-20℃或-80℃）保存，避免反复冻融。

试剂准备：

标准品的配置：

A，总胆固醇标准液配制：在胆固醇标准品的试管中加入1mL提取液，混匀，37℃水浴孵育20min，混匀即得10mmol/L总胆固醇标准工作液。

B，标准液浓度梯度配制：如下图操作

组别	blank	S1	S2	S3	S4	S5	S6
总胆固醇标准液（ μL ）	0	1	2	4	8	16	32
提取液（ μL ）	32	31	30	28	24	16	0
稀释后总胆固醇浓度（mmol/L）	0	0.3125	0.625	1.25	2.5	5	10

注意：1，样品在什么溶液中，标准品也需用什么溶液稀释，这样可以减小误差。

2，初次测定后知道样品的浓度范围后，可以对标准品在样品浓度范围附近密集测定。

3，总胆固醇标准工作液在4℃容易析出结晶，37℃水浴孵育20min结晶可消失，不影响使用。

检测程序：

- 加显色液：**每个标准液及待测样品酶标板孔内加入显色液198 μL 。
- 加待测样本：**将配制好的标准液及待测样品各取2 μL 加入到上述各对应板孔中，混匀。
- 孵育及读数：**将酶标板放入37℃酶标仪中，孵育10min，在504nm处读OD值。

结果判断与计算：

- 所有OD值建议减除空白孔值后再进行计算，如空白孔OD低于0.1，也可以直接计算。
- 以标准品浓度作横坐标，OD值作纵坐标，手工绘制或用软件绘制标准曲线，根据样品OD值计算出相应含量，再乘以稀释倍数即可。

注意事项

1. 请自备1.5mL离心管及离心管架等常规检测设备及仪器。
2. 正式测定之前选择2~3个预期差异大的样本做预测定，以熟悉实验流程。
3. 检测时所有试剂都要恢复到室温，试剂盒开封后剩余试剂放回袋中1个月内用完。
4. 在酶标板上操作，如果手动难于混匀，可以在酶标仪中选择“震荡5s”模式，进行混匀处理。
5. 实验前请认真仔细阅读此说明书，说明书以试剂盒内纸质版为准。
6. 本试剂盒仅用于科研，不能用于临床诊断！
7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性口罩和手套操作。