M5 HiPer 总胆固醇(TC)含量检测试剂盒使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 HiPer 总胆固醇(TC)含量检测试剂盒	100 管/96 样	MF334-01

【储存条件】： 2-8℃

【产品简介】

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。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△4-胆甾烯酮和 H2O2；最后利用过氧化物酶催化 H2O2 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。

【需自备仪器和试剂】

可见分光光度计/酶标仪、可调式移液枪、微量石英比色皿/96 孔板，天平，低温台式离心机，EP 管，蒸馏水，异丙醇。

【产品组分】

提取液：异丙醇 100mL（自备），4℃保存。

试剂一：液体 30mL×1 瓶，4℃保存。

试剂二：液体 200ul×1 只，4℃保存。

试剂三：液体 30ul×1 只，4℃保存。

标准品：粉剂×1 支，10mg 胆固醇，4℃保存。使用前加入 517ul 提取液，振荡溶解，即为 50umol/ml 的胆固醇标准溶液。

工作液的配置：将试剂一：试剂二：试剂三按 3ml：20ul：3ul 配置，现用现配。

【使用方法】

一、样本处理：

1. 组织：按照组织质量（g）：提取液体积(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。10000g，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

2. 细菌、真菌：按照细胞数量（104 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），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 2 秒，间隔 3 秒，总时间 3min）；然后 10000g，4℃离心 10min，取上清置于冰上待测。

3. 血清（浆）样品：直接测定。

二、测定步骤：

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 500nm，蒸馏水调零。

2. 将 50μmol/mL 标准液用提取液稀释为 2.5、1.25、0.625、0.3125、0.15625、0.078μmol/mL 的标准溶液备用。

3. 操作表：(在离心管或 96 孔板中依次加入下列试剂)

	测定管	标准管	空白管
样品（μL）	20	-	-
标准溶液（μL）	-	20	-
提取液（μL）	-	-	20
工作液（μL）	180	180	180
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，ΔA=A 测定管-A 空白管，ΔA 标准=A 标准管-A 空白管，空白管只需测一次。			

三、总胆固醇含量计算

一、标准曲线的绘制：

以各个标准溶液的浓度为 x 轴，其对应的△A 标准为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程 y=kx+b，将△A 带入方程得到 x（μmol/mL）

二、总胆固醇含量的计算：

1. 血清（浆）中 FC 含量计算：TC 含量（μmol/dL）=x×100。

2. 组织中 FC 含量计算：

(1) 按样本蛋白浓度计算

TC 含量（μmol/mg prot）=x×V 提取÷（Cpr×V 提取）=x÷Cpr。

(2) 按样本鲜重计算

TC 含量（μmol/g 鲜重）=x×V 提取÷W= x÷W

3. 细胞、细菌中 TC 含量计算：

TC 含量(μmol/104cell)=x×V 提取÷500=0.002x。

100：1dL=100mL；V 提取：加入样本的提取液体积，1mL；W：样本质量，g；500:500 万个细胞数量。

四、注意事项

当△A 大于 1.5 时，建议将样本用提取液稀释后再进行测定。

【备注】
本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。