总胆固醇（TC）含量检测试剂盒说明书

规格：96 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1.使用前请通读一遍说明书再开始实验。

2.正式检测前选取 2~3 个预期差异较大的样本进行预检测，如果ΔA>2，将上清液进行稀释后再检测，直至ΔA<2。

3.本试剂盒仅用于科研。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
试剂一	110 mL	4℃	
试剂二	19.8 mL×1	4℃	
试剂三	100 μL×1	4℃	
试剂四	100 μL×1	4℃	
标准品	10 mg×1	4℃	临用前加入 517 μL 试剂一，则得到 50 μmol/mL 标准溶液。若重新做标曲则用到该试剂，标准系列溶液按照与待测样本相同的操作步骤同步测定。

三、仪器和用品

酶标仪、水浴锅/恒温培养箱、匀浆器/细胞超声破碎仪、96 孔板、可调式移液器、可降温离心机、超纯水/蒸馏水。

四、样品制备

1. 细菌、细胞样品的制备

细菌或培养细胞：收集细菌或细胞到离心管中，离心后弃上清。按照细菌或细胞数量（10^4 个）：试剂一体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 试剂一），冰浴超声波破碎（功率 300 W，超声 2 s，间隔 3 s，总时间 3 min）；10000 g，4℃离心 10 min 后，置于冰上，上清液为待测样本。

2.组织

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 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一）进行冰浴匀浆，10000 g，4℃离心 10 min 后，置于冰上，上清液为待测样本。

3. 血清、血浆等液体样品：直接测定。

五、测定步骤

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 500 nm 处。

2. TC 工作液的配制：临用前，将全部试剂三和试剂四转移至试剂二瓶中（用试剂二充分润洗试剂三和试剂四），充分混匀，TC 工作液置于 37℃水浴 10 min。用不完的工作液 4℃保存一个月。

3. 在 96 孔板中依次加入（加入下列试剂时确保准确，降低误差）：

试剂名称	测定管	空白管
待测样本 （μL）	20	-
试剂一 （μL）	-	20
TC 工作液 （μL）	180	180
混匀，37℃反应 1 h 后，测定 500 nm 处吸光值，ΔA= A 测定管-A 空白管。 **注：空白管只需测 1~2 管。**		

六、计算：

1. 标准方程

标准条件下测定的回归方程为 y= 0.3411x + 0.0018，R^2=0.9995；x 为标准溶液浓度，μmol/mL；y 为ΔA。

2.按照血清（浆）体积计算

总胆固醇（TC）含量（μmol/mL）=（ΔA-0.0018）÷0.3411×F=2.9317×（ΔA-0.0018）×F

3.按照蛋白浓度计算**（需另外测蛋白浓度）**

总胆固醇（TC）含量（μmol/mg prot）=（ΔA-0.0018）÷0.3411×V1÷（V1×Cpr）×F=2.9317×（ΔA-0.0018）÷Cpr×F

4.按照样本质量计算

总胆固醇（TC）含量（μmol/g 鲜重）=（ΔA-0.0018）÷0.3411×V1÷（W×V1÷V2）×F=2.9317×（ΔA-0.0018）÷W×F

5.按照细菌或细胞密度计算

总胆固醇（TC）含量（μmol/10^4 cell）=（ΔA-0.0018）÷0.3411÷[细胞数量（万个）

×V1÷V2]×F=29.317×（ΔA-0.0018）÷细胞数量（万个）×F

V1：加入样本体积，0.02 mL；V2：加入试剂一体积，1 mL；F：样本稀释倍数；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样品质量，g。

七、产品简介

总胆固醇（TC）是动物体内固醇类脂质，主要由肝脏内源合成、少量经日粮脂质吸收获取，结合脂蛋白随血液转运，最终经胆汁排入肠道代谢排出，是动物临床生化核心脂代谢指标，同时反映肝脏合成功能、日粮营养水平、内分泌稳态状态。