



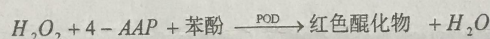
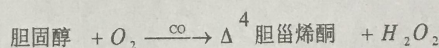
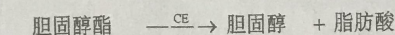
总胆固醇(T-CHO)测试盒说明书

(货号:A1111-1-1 COD-PAP法 微板法)

一、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 (酶剂)	25mL×1 瓶	Good's 缓冲液	50mmol/L, pH6.7	2~8℃ 避光保存
		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	
校准品	0.1mL×1 支	胆固醇	见标签	室温放置
附送 96 孔平底酶标板一块				

二、测定原理:



生成的醌类化合物颜色的深浅与胆固醇的含量成正比, 分别测定校标准管和样本管的吸光度值, 计算胆固醇的含量。

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]: 1、如组织样本为非高脂样本, 匀浆介质统一用磷酸盐缓冲液(0.1mol/L pH 7.4)或生理盐水进行匀浆提取。

2、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匀浆提取。

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 300W, 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]: 一般建议收集的细胞密度在 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	校准孔	样本孔
蒸馏水 (μL)	2.5		
校准品 (μL)		2.5	
样本 (μL)			2.5
工作液 (μL)	250	250	250

混匀, 37℃ 孵育 10 分钟, 波长 510nm, 酶标仪测定各孔吸光度值。

四、计算公式及举例:

1、血清等液体样本计算公式:

$$\text{酶标仪操作: 胆固醇量} = \frac{\text{样本OD值} - \text{空白OD值}}{\text{校准OD值} - \text{空白OD值}} \times \frac{\text{校准品浓度}}{\text{(mmol/L)}} \times \text{(mmol/L)}$$

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, 校准孔吸光度0.2344, 样本孔吸光度0.1724, 则计算如下:

$$\text{总胆固醇含量} = \frac{\text{样本OD值} - \text{空白OD值}}{\text{校准OD值} - \text{空白OD值}} \times \frac{\text{校准品浓度}}{\text{(mmol/L)}} = \frac{0.1724 - 0.0443}{0.2344 - 0.0443} \times 5.17 = 3.4838 \text{ mmol/L}$$

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

$$\text{总胆固醇含量} = \frac{\text{样本OD值} - \text{空白OD值}}{\text{校准OD值} - \text{空白OD值}} \times \frac{\text{校准品浓度}}{\text{(mmol/L)}} = \frac{0.1011 - 0.0443}{0.2344 - 0.0443} \times 5.17 = 1.5447 \text{ mmol/L}$$

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):

$$\text{胆固醇含量} = \frac{\text{样本OD值} - \text{空白OD值}}{\text{校准OD值} - \text{空白OD值}} \times \frac{\text{校准品浓度}}{\text{(mmol/L)}} \div \frac{\text{待测样本蛋白浓度}}{\text{(gprot/L)}}$$

注: prot 为“蛋白”的意思, 本所有售蛋白测定试剂盒(货号为 A045-2 或 A045-3/-4)

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):

$$\text{胆固醇含量} = \frac{\text{样本OD值} - \text{空白OD值}}{\text{校准OD值} - \text{空白OD值}} \times \frac{\text{校准品浓度}}{\text{(mmol/L)}} \div \frac{\text{待测样本质量浓度}}{\text{(g/L)}}$$

注: 高脂样本建议用乙醇来提取。待测样本质量浓度=样本前处理时称取样本的质量(鲜重, g) / 加入的乙醇体积(L), 细胞样本测定时可将上式中样本质量浓度替换为细胞前处理时的细胞密度。

例: 取10%小鼠肝匀浆2.5μL, 按操作表操作, 得空白孔吸光度0.0452, 校准孔吸光度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:



$$\begin{aligned}\text{总胆固醇含量} &= \frac{\text{样本OD值} - \text{空白OD值}}{\text{校准OD值} - \text{空白OD值}} \times \text{校准品浓度} \times \frac{\text{待测样本蛋白浓度}}{(\text{gprot/L})} \\ (\text{mmol/gprot}) &= \frac{0.1038 - 0.0452}{0.2350 - 0.0452} \times 5.17 \div 12.0121 = 0.1329 \text{ mmol/gprot}\end{aligned}$$

五、产品描述:

本试剂盒采用 COD-PAP 法配制, 用于体外测定总胆固醇含量。适用于各型酶标仪、半自动或全自动生化分析仪。

六、性能指标:

- 1、试剂空白管吸光度 ≤ 0.100 (光径 0.5cm)。
- 2、线性: $0 \sim 10.34 \text{ mmol/L}$ 范围内, $r^2 > 0.995$ 。
- 3、精密度: $CV \leq 3\%$, 批间相对极差 $\leq 5\%$ 。
- 4、稳定性: 原装试剂盒在 $2^\circ\text{C} \sim 8^\circ\text{C}$ 避光保存, 有效期为 12 个月。开启后 $2^\circ\text{C} \sim 8^\circ\text{C}$ 避光保存, 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。

八、参考文献:

- 1、李健斋, 血清(浆)胆固醇测定方法的现状, 中华医学会杂志, 1982 年, 第一期 36 页。
- 2、叶应妩、王毓三 全国临床检验操作规程 第二版 东南大学出版社, 2006, P474