

CheKine™ 总胆固醇（TC）含量检测试剂盒（微量法）

货号: KTB2220

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

	检测范围: 0.07-7 $\mu\text{mol/mL}$		灵敏度: 0.07 $\mu\text{mol/mL}$
	适用样本: 血清（浆）、动物组织、细胞、细菌		
	保质期: -20℃, 避光保存 6 个月		

01 背景与原理

总胆固醇（TC）包括游离胆固醇和胆固醇酯。组织 TC 是指组织中所有脂蛋白所含胆固醇之总和。

本试剂盒检测原理是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 Δ^4 -胆甾烯酮和 H_2O_2 ；最后利用过氧化物酶催化 H_2O_2 氧化 4-氨基安替比林和苯酚，生成红色醌类化合物；在 500 nm 有特征吸收峰，其颜色深浅与 TC 含量成正比。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Reagent I	Powder×1 vial	Powder×1 vial	-20℃, 避光保存
Working Reagent I	空瓶×1	空瓶×1	RT
Reagent II	5 mL	10 mL	4℃
Reagent III	10 mL	20 mL	4℃, 避光保存
Standard	1 mL	1 mL	-20℃, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 500 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	无水乙醇/PBS	样本提取/样本清洗用
其他	匀浆器（组织样本）、低温离心机、水浴锅、制冰机、 可调式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有 助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询
本公司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴
实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Working Reagent I	临用前配制：48 T 用 4 mL Reagent II 充分溶解 Reagent I 后将其转移至 Working Reagent I 瓶中，96 T 加入 8 mL Reagent II 充分溶解 Reagent I 后将其转移至 Working Reagent I 瓶中	未用完的试剂 4℃ 避光保存一周或分装 后 -20℃ 避光保存一个月，避免反复冻融
Reagent II	即用型；使用前平衡到室温	4℃ 保存
Reagent III	即用型；使用前平衡到室温	4℃ 避光保存
Standard	即用型；使用前平衡到室温	-20℃ 避光保存

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。提取液中含有使蛋白变性的成分，若按蛋白浓度计算时，需要重新用去离子水提取蛋白进行测定。

- 动物组织：称取约 0.1 g 组织，加入 1 mL 无水乙醇，冰浴匀浆，8000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
- 细胞或细菌：收集 5×10⁶ 个细胞或细菌，用预冷的 PBS 清洗细胞或细菌，800 g 离心 2 min，弃上清。加 1 mL 无水乙醇进行冰浴超声破碎。超声波破碎 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），8000 g，4℃离心 10 min，取上清置于冰上待测。
- 血清（浆）：直接检测。

05-3 实验步骤

注意：检测时间不宜超过 1 h。

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 500 nm。
2. Working Solution 的配制：现配现用，每孔配制 200 μL Working Solution，按照实际用量将 Working Reagent I 和 Reagent III按照 1:3 的比例混合均匀。
3. 检测体系配制：空白孔和标准孔只需测定 1 次。在 96 孔板中按照如下方式操作：

试剂	空白孔 (μL)	标准孔 (μL)	测定孔 (μL)
无水乙醇	10	0	0
Standard	0	10	0
样本	0	0	10
Working Solution	200	200	200

4. 吸光度检测：混匀后，37℃孵育 30 min，测定 500 nm 处吸光度，分别记为 A_{空白}、A_{标准}、A_{测定}。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{空白}$ 、 $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$

2. 样本 TC 含量计算

- 按样本蛋白浓度计算：
 $TC (\mu mol/mg \text{ prot}) = C_{标准} \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times V_{样} \div (C_{pr} \times V_{样}) \times n = 5 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div C_{pr} \times n$
- 按样本质量计算：
 $TC (\mu mol/g) = C_{标准} \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times V_{样} \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \times n = 5 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W \times n$
- 按细胞或细菌数量计算：
 $TC (\mu mol/10^4) = C_{标准} \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times V_{样} \div (N \times V_{样} \div V_{样总}) \times n = 5 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div N \times n$

- 按样本体积计算：

$$TC\ (\mu\text{mol/mL})=C_{\text{标准}}\times\Delta A_{\text{测定}}\div\Delta A_{\text{标准}}\times n=5\times\Delta A_{\text{测定}}\div\Delta A_{\text{标准}}\times n$$

C_{标准}：5 mmol/L=5 μmol/mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；V_样：加入反应体系中样本体积，0.01 mL；W:样本质量，g；V_{样总}:样品制备加入无水乙醇的体积，1 mL；n：样本稀释倍数；N：细胞或细菌数量，以 10⁴ 为单位（例如细胞数量为 5×10⁶，N=500）。

07 结果展示

示例-1: 取 0.1 g 小鼠肝脏, 按照测定步骤操作, 用 96 孔板进行检测。测得ΔA_{测定}=A_{测定}-A_{空白}=0.265-0.092=0.173, ΔA_{标准}=A_{标准}-A_{空白}=0.889-0.092=0.797。按样本质量计算得：TC (μmol/g)=5×ΔA_{测定}÷ΔA_{标准}÷W=10.853 μmol/g。

08 FAQ

- 检测得到的样本ΔA_{测定} 过高或者过低怎么办？

如果ΔA_{测定} 小于 0.01 可适当加大样本量。如果ΔA_{测定} 大于 1.0，样本可用无水乙醇进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。检测时间不宜超过 1 h。

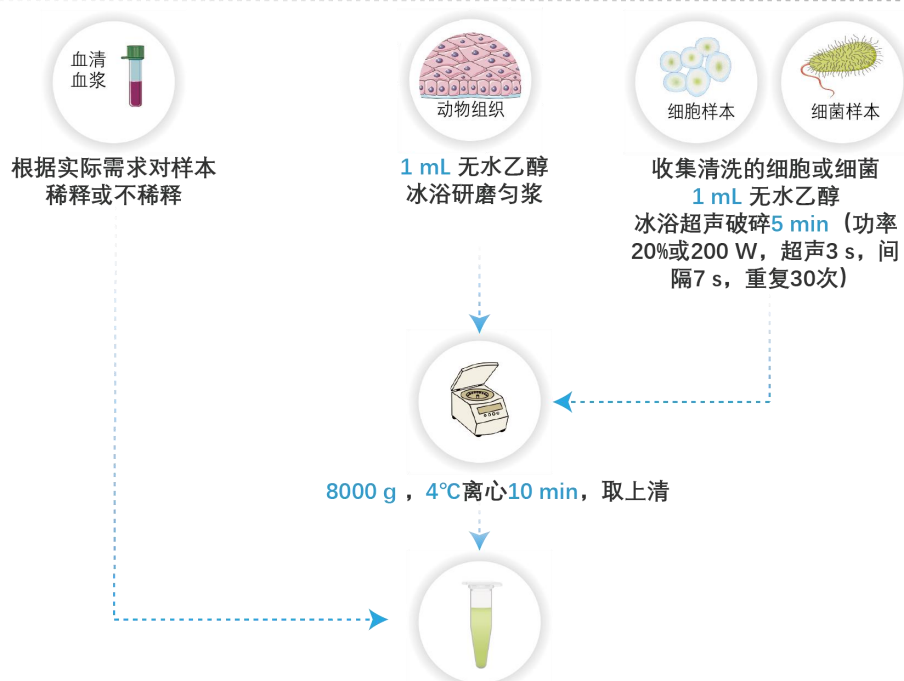
09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB2200	CheKine™ 甘油三酯（TG）检测试剂盒（微量法）
KTB2210	CheKine™ 游离胆固醇（FC）检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 总胆固醇（TC）含量检测流程示意图

(Abbking 货号：KTB2220)

样本处理



体系配置

Working Solution: 现配现用,
每孔配制200 μ L Working
Solution, 按照实际用量将
Working Reagent I 和Reagent
III 按照1:3的比例混合均匀。



数据检测

