（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!）

产品货号：E-BC-K109-S

产品规格：50 assays(48 samples)/100 assays(96 samples)

检测仪器：紫外-可见光分光光度计（510 nm）

Elabscience®总胆固醇(TC)比色法测试盒

(单试剂 COD-PAP 法)

Total Cholesterol (TC) Colorimetric Assay Kit

(Single Reagent, COD-PAP Method)

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100
邮箱：biochemical@elabscience.cn
网址：www.elabscience.cn

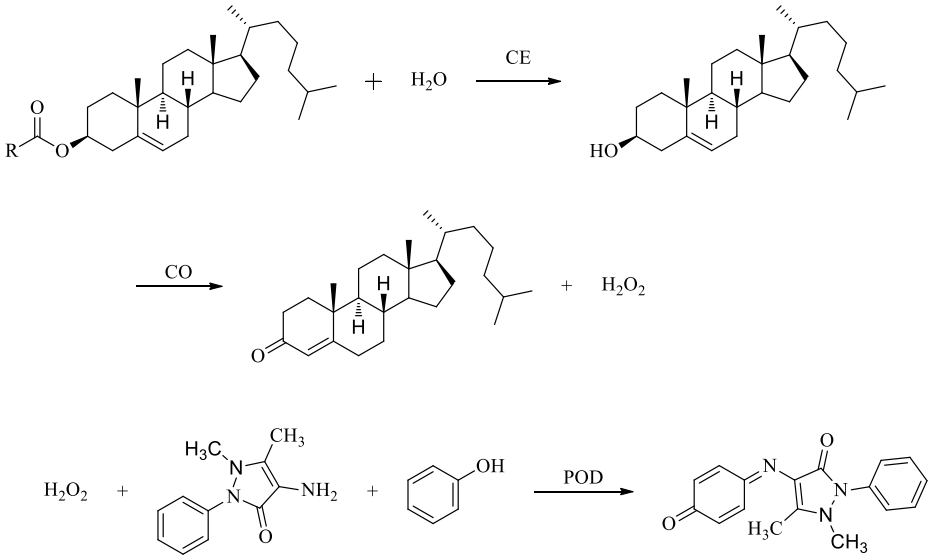
具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清（浆）、组织的总胆固醇含量。

检测原理

总胆固醇(Total Cholesterol，TC)包括游离胆固醇和胆固醇酯。胆固醇酯可被胆固醇酯酶（cholesterol esterase，CE）水解成胆固醇和游离脂肪酸，胆固醇在胆固醇氧化酶（cholesterol oxidase，CO）的氧化作用下生成△4-胆甾烯酮和过氧化氢。过氧化氢在 4-氨基安替吡啉和酚存在时，经过氧化物酶（peroxidase，POD）催化，反应生成苯醌亚胺非那脲的红色醌类化合物，其颜色深浅与 TC 含量成正比。其检测原理如下图：



提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1) (50 assays)	规格 2 (Size 2) (100 assays)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	酶工作液 (Enzyme Working Solution）	60 mL×1 瓶	60 mL×2 瓶	2-8℃避光保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	胆固醇标准液 (5.17 mM Cholesterol Standard)	0.25 mL×1 支	0.5 mL×1 支	2-8℃ 保存 6 个月

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：紫外-可见光分光光度计（510 nm）、微量移液器（1000 μL，200 μL，100 μL，10 μL）、37℃恒温箱、离心机。

耗材：枪头（1000 μL，200 μL，10 μL ）、EP 管（2 mL）、吸水纸、擦镜纸。

试剂：双蒸水、生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）、无水乙醇。

试剂准备

实验开始前将所有试剂平衡至室温。

样本准备

① 样本处理

样本要求：样本中不能添加还原性物质，如抗坏血酸、谷胱甘肽等。

血清血浆等液体样本：可直接测定。

组织样本：常规匀浆处理(无水乙醇)。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.09-25.85 mmol/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	10%小鼠肝匀浆	不稀释
大鼠血清	不稀释	10%小鼠肾组织	不稀释
小鼠血清	不稀释	10%大鼠心组织	不稀释

注：血清（浆）稀释液为生理盐水(0.9% NaCl)或 PBS(0.01 M，pH 7.4)；动物组织样本的稀释液为无水乙醇。

实验关键点

① 因标准品和样本加样量为 10 μL，为减小误差要贴壁加液。

② 在测定低值样本时，样本的上样量增加到 20 μL，此时空白孔和标准孔的上样量也需同时增加。

操作步骤

① 空白管：取 10 μL 双蒸水，加入 2 mL EP 管中；
标准管：取 10 μL 试剂二，加入 2 mL EP 管中；
测定管：取 10 μL 待测样本，加入 2 mL EP 管中。

② 向步骤①中的各管加入 1000 μL 试剂一。

③ 37℃孵育 10 min，酶标仪 510 nm 波长，测定 OD 值。

操作表

	空白孔	标准孔	样本孔
双蒸水（μL）	10	--	--
标准品（μL）	--	10	--
待测样本（μL）	--	--	10
试剂一（μL）	1000	1000	1000
充分混匀，37℃孵育 10 min，波长 510 nm，0.5 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定 OD 值。			

结果计算

血清(浆)等液体样本中 TC 含量计算公式：

$$\text{TC 含量（mmol/L）} = \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times c \times f$$

组织中 TC 含量计算公式：

$$\text{TC 含量（mmol/kg wet weight）} = \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times c \times f \div \frac{m}{V}$$

注解：

ΔA_1：样本 OD 值-空白 OD 值

ΔA_2：标准 OD 值-空白 OD 值

c：标准品浓度（5.17 mmol/L）

f：样本加入检测体系前稀释的倍数

m：组织样本质量 (g)

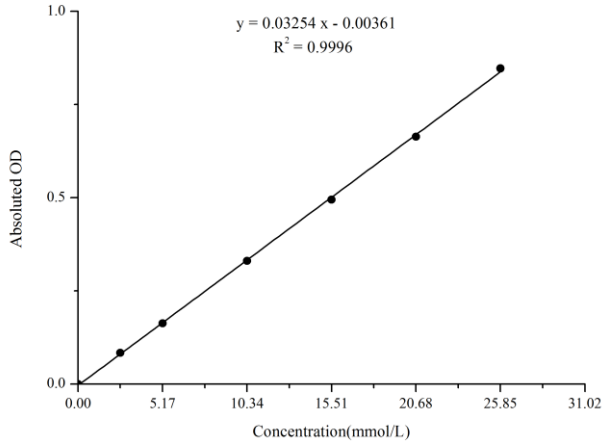
V：组织样本匀浆液体积（mL）

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.09-25.85 mmol/L	平均批间差	2.8%
灵敏度	0.09 mmol/L	平均批内差	1.1%
平均回收率	102%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



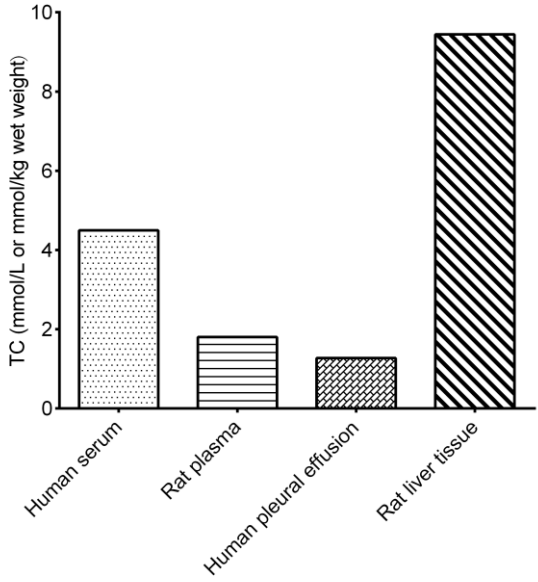
附录2 实例分析

例如检测人血清(数据仅供参考):

取10 μL人血清，按操作表操作，结果如下：空白管平均OD值为0.028，标准管平均OD值为0.210，测定管平均OD值为0.186，计算结果为：

$$\text{TC 含量（mmol/L）} = \frac{0.186 - 0.028}{0.210 - 0.028} \times 5.17 \times 1 = 4.50 \text{ mmol/L}$$

按照说明书操作,测定人血清（加样量10 μL）、大鼠血浆（加样量10 μL）、人胸水（加样量10 μL）及大鼠肝组织（10%组织匀浆，加样量10 μL）中的TC含量（如下图）：



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	未严格按照说明书操作	操作前认真阅读操作步骤和注意事项
样本和标准品显色很低	孵育时间太短	保证充足的孵育时间
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数，重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本，重新检测
读数数值低	用不恰当波长检测	选择正确的检测波长

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Peng Hao, Chen Binbin, Wei Wei et al. N-methyladenosine (mA) in 18S rRNA promotes fatty acid metabolism and oncogenic transformation.[J] .Nat Metab, 2022, 4: 1041-1054. IF:19.864
2. Inmaculada López-Almela, Marina Romaní-Pérez, Bullich-Vilarrubias C, et al. Bacteroides uniformis combined with fiber amplifies metabolic and immune benefits in obese mice[J]. Gut Microbes, 2021, 13(1), 1865706. IF:10.245
3. Omar N, Frank J, Kruger J, et al. Effects of High Intakes of Fructose and Galactose, with or Without Added Fructooligosaccharides, on Metabolic Factors, Inflammation, and Gut Integrity in a Rat Model[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2021:2001133. IF:5.914
4. Zhu T, Wang Z, Zou T, et al. SOAT1 Promotes Gastric Cancer Lymph Node Metastasis Through Lipid Synthesis. Front Pharmacol. 2021; 12:769647. IF:5.81
5. Zeng X Peng, Wang L J, Guo L H, et al. Dasatinib ameliorates chronic pancreatitis induced by caerulein via anti- fibrotic and anti-inflammatory mechanism[J]. Pharmacological Research, 2019, 147, 104357. IF:5.574
6. Liu K , Zhao X , Qi X , et al. Design, synthesis, and biological evaluation of a novel dual peroxisome proliferator-activated receptor alpha/delta agonist for the treatment of diabetic kidney disease through anti-inflammatory mechanisms[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2021, 218, 113388. IF:5.572
7. Jung D S, Son Y J, Shin J M, et al. Gymnaster Koraiensis Extract Alleviated Metabolic Syndrome Symptoms and Stimulated UCP1-Independent Energy Consumption via AMPK Activation in White Adipose Tissue[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2020. IF:5.309
8. Wang L J, He L, Hao L, et al. Isoliquiritigenin ameliorates caerulein-induced chronic pancreatitis by inhibiting the activation of PSCs and pancreatic infiltration of macrophages[J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2020. IF:4.486
9. Ar?can E Y, Kayal? D G, Karaca B U, et al. Reproductive effects of subchronic exposure to acetamiprid in male rats[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 1-10. IF:3.998
10. Luo Y, Qiao X, Ma Y, et al. Disordered metabolism in mice lacking irisin[J]. Scientific Reports, 2020, 10(2). IF:3.998
11. Wang C , Hu N H , Yu L Y , et al. 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbence-2-O-β-D-glucoside

attenuates hepatic steatosis via IKKβ/NF-kB and Keap1-Nrf2 pathways in larval zebrafish[J]. BIOMEDICINE & PHARMACOTHERAPY, 2020, 127: 110138. IF:3.743

12. Yu H, Zhang L, Chen P, et al. Dietary bile acids enhance growth, and alleviate hepatic fibrosis induced by a high starch diet via AKT/FOXO1 and cAMP/AMPK/SREBP1 pathway in Micropterus salmoides[J]. Frontiers in Physiology, 2019, 10. IF:3.367
13. Gomaa A A, Farghaly H S M, Dalia A, et al. Inhibition of adiposity and related metabolic disturbances by polyphenol-rich extract of Boswellia serrata gum through alteration of adipo/cytokine profiles[J]. Inflammopharmacology, 2018: 1-11. IF:3.304
14. ul Haq M E, Akash M S H, Rehman K, et al. Chronic exposure of bisphenol A impairs carbohydrate and lipid metabolism by altering corresponding enzymatic and metabolic pathways[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2020: 103387. IF:3.292
15. Messiha B A S, Ali M R A, Khattab M M, et al. Perindopril ameliorates experimental Alzheimer's disease progression: role of amyloid β degradation, central estrogen receptor and hyperlipidemic-lipid raft signaling[J]. Inflammopharmacology, 2020. IF:3.283
16. Kilany O E, Abdelrazek H M A, Aldayel T S, et al. Anti-obesity potential of Moringa olifera seed extract and lycopene on high fat diet induced obesity in male Sprauge Dawely rats[J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2020, 27(10): 2733-2746. IF:2.802
17. Akinnuga A M, Siboto A, Khumalo B, et al. Bredemolic Acid Improves Cardiovascular Function and Attenuates Endothelial Dysfunction in Diet-Induced Prediabetes: Effects on Selected Markers[J]. Cardiovascular Therapeutics, 2020, 2020. IF:2.538
18. Badmus O O, Sabinari I W, Olatunji L A. Dexamethasone increases renal free fatty acids and xanthine oxidase activity in female rats: could there be any gestational impact?[J]. Drug and Chemical Toxicology, 2020: 1-12. IF:2.405
19. Gao G, Xie Z S, Li E W, et al. Dehydroabietic acid improves nonalcoholic fatty liver disease through activating the Keap1/Nrf2-ARE signaling pathway to reduce ferroptosis[J]. Journal of Natural Medicines, 2021:1-13. IF:2.343
20. Wang F, Chen H, Chen Y, et al. Diet-induced obesity is associated with altered expression of sperm motility-related genes and testicular post-translational modifications in a mouse model[J]. Theriogenology, 2020. IF:2.094
21. Akinnuga A M, Siboto A, Khumalo B, et al. Bredemolic Acid Ameliorates Selected Liver Function Biomarkers in a Diet-Induced Prediabetic Rat Model[J]. Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology, 2020, 2020. IF:2.055
22. Rahman S U, Huang Y, Zhu L, et al. Tea polyphenols attenuate liver inflammation by

modulating obesity-related genes and down-regulating COX-2 and iNOS expression in high fat-fed dogs[J]. BMC Veterinary Research, 2020, 16(1): 1-12. IF:1.835

23. Adeyemi W J, Abdussalam T A, Abdulrahim A, et al. Elevated, sustained, and yet reversible biotoxicity effects of lead on cessation of exposure: Melatonin is a potent therapeutic option[J]. Toxicology and Industrial Health, 2020, 36(7): 477-486. IF:1.708
24. Hassan S, Moustafa A, Kabil S L, et al. Alagebrium Mitigates Metabolic Insults in High Carbohydrate and High Fat Diet Fed Wistar Rats[J]. Pharmaceutical Sciences, 2020, 26(1): 13-24. IF:1.24
25. Dewi L, Lestari L A, Astiningrum A N, et al. The Alleviation Effect of Combination of Tempeh and Red Ginger Flour towards Insulin Sensitivity in High-Fat Diet Rats[J]. Journal of Food and Nutrition Research, 2020, 8(1): 21-25. IF:0.756
26. USLU H, USLU G A, ?ZEN H, et al. Effects of different doses of Prunus laurocerasus L. leaf extract on oxidative stress, hyperglycaemia and hyperlipidaemia induced by type I diabetes[J]. 2018.
27. Olakanmi Bodun O, Olorundare Olufunke E, Afolabi Olanrewaju O, et al. Assessment of the Effects of Crude Methanolic Extracts (Leaf and Twig) of Loranthus micranthus on Streptozotocin Induced Diabetic Rats[J]. Journal of Diabetes and Islet Biology, 2020, 10: 2641-8975.
28. Singh P, Garg R, Goand U K, et al. Combination of Pancreastatin inhibitor PSTi8 with metformin inhibits Fetuin-A in type 2 diabetic mice[J]. Heliyon, 2020, 6(10): e05133.
29. Susilowati R, Setiawan A M. Cinnamomum burmannii (Nees & T. Nees) Blume and Eleutherine palmifolia (L.) Merr. extract combination ameliorate lipid profile and heart oxidative stress in hyperlipidemic mice[J]. Veterinary World, 2020, 13(7): 1404.