

## 胆固醇检测试剂盒

### 一般描述

胆固醇是哺乳动物细胞膜的重要组成部分，它在细胞内运输、细胞信号传导和维持细胞膜流动性方面发挥作用。在血液中，胆固醇以游离酸和胆固醇酯的形式循环。控制血清胆固醇水平具有重要的治疗作用，因为胆固醇水平升高与动脉粥样硬化和心血管疾病的发展有关。近来的证据表明，胆固醇稳态的紊乱有助于慢性炎症状态的发展。胆固醇主要由肝脏产生。胆固醇水平异常与冠心病有关。胆固醇与乳腺癌的进展或抑制有关。肿瘤细胞能够合成它们自己的胆固醇，这有助于细胞增殖。在癌症中观察到胆固醇水平的升高，尤其是在前列腺癌中。肥胖症或者中观察到胆固醇升高。本公司所生产的胆固醇检测试剂盒仅使用单一工作试剂，将胆固醇酯水解、氧化及显色反应结合为一个步骤。反应产物的吸光强度(570nm) 或荧光强度( $\lambda_{em/ex} = 585/530nm$ ) 与样本中的总胆固醇浓度成正比。检测范围：比色法 10-1000mg/L 胆固醇；荧光法 2 到 100 mg/L 胆固醇。

### 应用

可直接检测血清、血浆与其它生物样本中的胆固醇含量。

### 试剂盒组成与保存

缓冲液: 20 mL	-20°C 保存
酶试剂: 120 $\mu$ L	-20°C 保存
显色剂: 120 $\mu$ L	-20°C 保存
标准品: 1 mL 3000 mg/L	-20°C 保存

### 比色法检测步骤

在检测前应将所有试剂置于室温。血清与血浆样品应当透明，无浑浊和沉淀；若有沉淀则需过滤或离心除去。样品在-20 至-80 °C 可存放一年以上。

- 标准曲线：先将8  $\mu$ L 3000 mg/L的标准品与232  $\mu$ L缓冲液混合，配成10倍浓度为1000 mg/L的预混液。按下表比例用缓冲液进一步稀释标准品，将稀释的标准品各取50 $\mu$ L加入透明96孔板。

标号	标准品 + 缓冲液	容量	mg/L
1	100 $\mu$ L + 0 $\mu$ L	100 $\mu$ L	1000
2	60 $\mu$ L + 40 $\mu$ L	100 $\mu$ L	600
3	30 $\mu$ L + 70 $\mu$ L	100 $\mu$ L	300
4	0 $\mu$ L + 100 $\mu$ L	100 $\mu$ L	0

样品：先将样品稀释10倍（例如将10  $\mu$ L样品与90  $\mu$ L缓冲液混合）。取50 $\mu$ L稀释后的样品溶液加入96孔板。

## DGC100

2. 按照每孔需缓冲液 55  $\mu\text{L}$ 、酶试剂 1  $\mu\text{L}$ 、显色剂 1  $\mu\text{L}$  的比例，为所有反应孔配制足量工作试剂，并在每个标准品与样品孔中加入 50  $\mu\text{L}$  反应试剂，轻拍使其混合。

3. 室温下培养 30 分钟，在 570nm 波长下读取 OD 值。

备注：若样品的 OD 值比 100 mg/dL 标准品的 OD 值高，需用缓冲液将样品再稀释并重复检测，所得结果需乘稀释系数。

### 荧光法检测步骤

1. 使用荧光测定法时，线性测量范围为 2 到 100 mg/dL 胆固醇。将比色检测过程中制备的标准品再用缓冲液稀释 10 倍成为 0, 30, 60, 100 mg/L 胆固醇。

2. 取黑色 96 孔板，将 50  $\mu\text{L}$  标准品与 50  $\mu\text{L}$  样品加入不同孔。

3. 每孔加入 50  $\mu\text{L}$  反应试剂(见比色法)，轻拍孔板使其混合。

4. 在室温下反应 30 分钟，在  $\lambda_{em} = 585\text{nm}$ ， $\lambda_{ex} = 530\text{nm}$  的条件下读取荧光值。

### 浓度计算

用标准品的值  $R_{\text{标准品}}$  减去空白对照值  $R_{\text{空白}}$  (缓冲液，4 号)，对标准品浓度作图得出斜率。样品的胆固醇浓度计算如下：

$$\text{胆固醇浓度} = \frac{R_{\text{样品}} - R_{\text{空白}}}{\text{斜率}} \quad (\text{mg/L})$$

备注：由于标准品与样品溶液都已稀释 10 倍，故此处无需再乘稀释因子。

注意事项：本产品仅供研究用。使用过程中应严格遵循实验安全措施。