

游离胆固醇 (FC) 含量检测试剂盒 (微量法)  
(本试剂盒仅供科研使用)

### 产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0341	游离胆固醇 (FC) 含量检测试剂盒 (微量法)	100 管/96 样

### 产品内容

名称	规格	储存条件
试剂一	液体 100mL × 1 瓶 (自备: 异丙醇)	
试剂二	液体 20mL × 1 瓶	4℃
试剂三	粉剂 × 1 瓶	4℃
试剂四	液体 40μL × 1 瓶	4℃
标准品	液体 1mL×1 支, 0.5μmol/mL.	4℃

### 一、产品说明

FC 是构成细胞膜的主要成分, 也是合成肾上腺皮质激素、性激素、胆汁酸及维生素 D 等生理活性物质的重要原料。FC 浓度可作为脂代谢的指标。

FC 氧化酶催化 FC 生成 $\Delta^4$ -胆甾烯酮和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 过氧化物酶催化 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、4-氨基安替比林和酚生成红色醌类化合物, 在 500nm 有吸收峰, 其颜色深浅与 FC 含量成正比。

### 二、自备材料

酶标仪、台式离心机、可调式移液器、96 孔板、研钵、冰、蒸馏水、异丙醇。

### 三、样品准备

- 1、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 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液), 进行冰浴匀浆。8000g 常温离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 2、细胞/细菌: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照细菌或细胞数量 (10<sup>4</sup> 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 1mL 试剂一), 超声波破碎 1min (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 1s, 停 1s); 即 FC 待测液。
- 3、血浆/血清: 直接检测。

### 四、操作步骤

**正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。**

- 1、酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 500nm, 蒸馏水调零。
- 2、FC 工作液的配制: 临用前, 吸取约 0.8mL 试剂二分别加入试剂三和试剂四瓶中, 充分溶解后再全部转移回试剂二瓶中, 充分混匀, FC 工作液置于 37℃ 水浴 10min。用不完的工作液 4℃ 保存一周。
- 3、标准管: 依次在 96 孔板中加入 20μL FC 标准液和 180μL FC 工作液, 混匀, 37℃ 静置 3h 后于 500nm 测定 A 标准管。
- 4、测定管: 依次在 96 孔板中加入 20μL FC 待测液和 180μL FC 工作液, 混匀, 37℃ 静置 3h 后于 500nm 测定 A 测定管。
- 5、空白管: 依次在 96 孔板中加入 20μL 试剂一和 180μL FC 工作液, 混匀, 37℃ 静置 3h

后于 500nm 测定 A 空白管。

## 五、含量的计算

1、按照组织蛋白浓度计算

FC 含量 ( $\mu\text{mol} / \text{mg prot}$ ) = C 标准液  $\times$  (A 测定管-A 空白管)  $\div$  (A 标准管-A 空白管)  
 $\div$ Cpr =  $0.5 \times$  (A 测定管-A 空白管)  $\div$  (A 标准管-A 空白管)  $\div$ Cpr。

2、按照样本鲜重计算

FC 含量 ( $\mu\text{mol} / \text{g}$  鲜重) = C 标准液  $\times$  (A 测定管-A 空白管)  $\div$  (A 标准管-A 空白管)  
 $\div$ W =  $0.5 \times$  (A 测定管-A 空白管)  $\div$  (A 标准管-A 空白管)  $\div$ W。

3、按照细菌/细胞密度计算

FC 含量 ( $\mu\text{mol} / 10^4 \text{ ceLL}$ ) = C 标准液  $\times$  (A 测定管-A 空白管)  $\div$  (A 标准管-A 空白管)  
 $\div$ 细菌或细胞 ( $10^4 \text{ ceLL} / \text{L}$ )  
=  $0.5 \times$  (A 测定管-A 空白管)  $\div$  (A 标准管-A 空白管)  $\div$ 细菌或细胞 ( $10^4 \text{ ceLL} / \text{L}$ ) 。

4、按照血清/血浆体积计算

FC 含量 ( $\mu\text{mol} / \text{dL}$ ) = C 标准液  $\times$  (A 测定管-A 空白管)  $\div$  (A 标准管-A 空白管)  $\times 100\text{mL}$   
=  $50 \times$  (A 测定管-A 空白管)  $\div$  (A 标准管-A 空白管) 。

C 标准液:  $0.5\mu\text{mol}/\text{mL}$ ; 100 mL: 1dL=100 mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g/mL。

## 六、注意事项

- 1、标准管和空白管只需测定一次。
- 2、最低检出限为  $1\text{nmol}/\text{mL}$ 。
- 3、若测定管产生白色浑浊, 可以将待测液用异丙醇稀释 2~5 倍后测定, 并在最后结果乘以相应倍数。