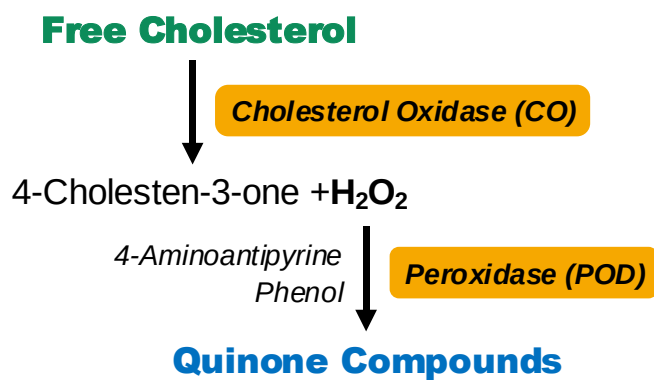




游离胆固醇（FC）含量检测试剂盒
Free Cholesterol (FC) Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



游离胆固醇（FC）含量检测试剂盒

Free Cholesterol (FC) Content Assay Kit

一、产品描述

胆固醇（Cholesterol）又称胆甾醇，是广泛存在于动物体内的一种环戊烷多氢菲衍生物，可作为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，也是构成细胞膜的主要成分，游离胆固醇含量可作为脂代谢研究及临床诊断的重要指标。

游离胆固醇可在胆固醇氧化酶催化作用下氧化为 Δ^4 -胆甾烯酮和 H_2O_2 ，再利用过氧化物酶催化 H_2O_2 氧化 4-氨基安替比林和酚，生成红色醌类化合物，产物在 500 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测游离胆固醇的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶 (自备试剂)	4°C保存	无水乙醇 (C_2H_6O , MW = 46.07, CAS: 64-17-5)
试剂一	液体 70 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂二	液体 700 μ L×1 支	4°C避光保存	-
标准品	粉剂×1 支 (10 mg 胆固醇标准品)	4°C保存	使用前加入 517 μ L 提取液充分溶解 (即为 50 μ mol/mL 胆固醇标准液)
标准稀释液的制备：将 50 μ mol/mL 胆固醇标准液使用提取液稀释至 3.0、2.0、1.0、0.5、0.25、0.125 μ mol/mL 即为标准稀释液。			

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (μ mol/mL)	50	10	10	2.0	1.0	0.5	0.25
标准液体积 (μ L)	100	150	100	200	200	200	200
提取液体积 (μ L)	400	350	400	200	200	200	200
稀释后浓度 (μ mol/mL)	10	3.0	2.0	1.0	0.5	0.25	0.125

注：有机试剂移液过程易产生体积误差，建议润洗枪头后进行移液，并及时更换枪头。

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、无水乙醇和蒸馏水。

1. 游离胆固醇的提取（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量(10^4 个)：提取液体积(mL) 为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 2 s，间隔 3 s，总时间 3 min），4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

注：分离血清或血浆应为非溶血样本，提取后待测样本不能用于蛋白浓度测定，需另取样本测定。

2. 测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 500 nm，蒸馏水调零。

②FC 工作液的制备（现用现配）：根据样本量按试剂一：试剂二 = 1 mL：10 μ L 的比例配制。

③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μ L)	标准管 (μ L)	空白管 (μ L)
待测样本	50	-	-
标准稀释液	-	50	-
提取液	-	-	50
FC 工作液	950	950	950
充分混匀，37℃显色 15 min			

吸光值测定：将反应液置于 1 mL 玻璃比色皿中，测定 500 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 标准和 A 空白；计算 ΔA 测定 = A 测定 - A 空白， ΔA 标准 = A 标准 - A 空白。注：空白管只需测 1-2 次。

标准曲线的建立：以 3.0、2.0、1.0、0.5、0.25、0.125 μ mol/mL 为横坐标 (x)，其对应的 ΔA 标准为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入公式中得到 x (μ mol/mL)。

3.游离胆固醇（FC）含量计算

①按组织蛋白浓度计算

$$\text{游离胆固醇含量} (\mu\text{mol/mg prot}) = \frac{x \times V_{\text{提}}}{C_{\text{pr}} \times V_{\text{提}}} = \frac{x}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{游离胆固醇含量} (\mu\text{mol/g}) = \frac{x \times V_{\text{提}}}{W} = \frac{x}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{游离胆固醇含量} (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = \frac{x \times V_{\text{提}}}{\text{细菌或细胞数量}} = \frac{x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{游离胆固醇含量} (\mu\text{mol/dL}) = 100 \times x$$

注释： V 提：样本提取后总体积，1 mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：细菌或细胞总数，以万计；100：单位换算系数，1 dL=100 mL。

四、注意事项

①若测定吸光值超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将待测样本使用提取液适当稀释后再进行测定，低于最低值建议适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取2-3个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

