

游离胆固醇(FC)含量检测试剂盒(微量法)

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号: BA1452

产品规格: 100管/96样

产品内容:

试剂一: 异丙醇100mL(自备);

工作液:液体20mL×1瓶,4℃保存;

标准品:液体1mL×1支,浓度为5μmol/mL,4℃保存。

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。

测定原理: FC氧化酶催化FC生成△4-胆甾烯酮和H2O2,过氧化物酶催化H2O2、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。

需自备的仪器和用品:

水浴锅、可调式移液枪、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板、和蒸馏水。

操作步骤:

一、FC的提取:

- 1. 组织:按照组织质量(g): 试剂一体积(mL)为1: $5\sim10$ 的比例(建议称取约0.1g组织,加入1mL 试剂一)进行冰浴匀浆。8000g,4℃离心10min,取上清置冰上待测。
- 2. 细菌、真菌:按照细胞数量(10^4 个): 试剂一体积(mL)为500~1000: 1的比例(建议500万细胞加入1mL试剂一),冰浴超声波破碎细胞(功率300w,超声2秒,间隔3秒,总时间3min); 然后8000g,4℃,离心10min,取上清置于冰上待测。
- 3. 血清(浆)样品:直接测定。

二、测定操作:

- 1. 分光光度计/酶标仪预热30min,调节波长到500nm,蒸馏水调零。
- 2. FC工作液在40℃水浴中预热30min。
- 3. 标准管:依次在微量石英比色皿/96孔板中加入 4μL FC标准液和196μL FC工作液,5min后于500nm测定A标准管。
- 4. 测定管: 依次在微量石英比色皿/96孔板中加入4 μ L FC特测液和196 μ L FC工作液,5min后于500m则定A测定管。 三、计算公式:
- a. 使用微量石英比色皿测定的计算公式如下
- 1. 血清(浆)中FC含量计算:

FC含量(μmol/dL)=C标准液×A测定管÷A标准管×100mL=500×A测定管÷A标准管 C标准液: 5μmol/mL; 100mL: 1dL=100mL。

- 2. 组织中FC含量计算:
- (1) 按样本蛋白浓度计算

FC 含量 (μmol/mg prot) =C 标准液×A 测定管÷A 标准管÷Cpr =5×A 测定管÷A 标准管÷Cpr





(2) 按样本鲜重计算

FC 含量 (μmol/g) =C 标准液×A 测定管÷A 标准管÷W =5×A 测定管÷A 标准管÷W C 标准液: 5μmol/mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g/mL

3. 细胞、细菌中 FC 含量计算:

FC 含量(μmol /10⁴ cell)=C 标准液×A 测定管÷A 标准管÷细菌或细胞(10⁴ cell /L) =5×A 测定管÷A 标准管÷细菌或细胞(10⁴ cell /L)

C 标准液: 5µmol/mL。

- b. 使用 96 孔板测定的计算公式如下
- 1. 血清(浆)中 FC 含量计算:

FC 含量 (μmol/dL) =C 标准液×A 测定管÷A 标准管×100mL =500×A 测定管÷A 标准管 C 标准液: 5μmol/mL; 100 mL: 1dL=100 mL。

- 2. 组织中 FC 含量计算:
- (1) 按样本蛋白浓度计算

FC 含量 (μmol/mg prot) =C 标准液×A 测定管÷A 标准管÷Cpr =5×A 测定管÷A 标准管÷Cpr

(2) 按样本鲜重计算

FC 含量 (μmol/g) =C 标准液×A 测定管÷A 标准管÷W =5×A 测定管÷A 标准管÷W C 标准液: 5μmol/mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g/mL

3. 细胞、细菌中 FC 含量计算:

FC 含量 (μmol /10⁴ cell) =C 标准液×A 测定管÷A 标准管÷细菌或细胞 (10⁴ cell /L) =5×A 测定管÷A 标准管÷细菌或细胞 (10⁴ cell /L)

C 标准液: 5μmol/mL。

注意事项:

最低检出限为 1mmol/L。