

上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

货号：ZC-S0413

规格：100 管/96 样

游离胆固醇 (free cholesterol, FC) 含量测定试剂盒说明书 微量法

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

测定意义：

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 Δ^4 -胆甾烯酮和 H_2O_2 ，过氧化物酶催化 H_2O_2 、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。

自备仪器和用品：

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。

试剂组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	异丙醇 100mL	4℃保存	自备
工作液	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	-
标准品	液体 1mL×1 支	4℃保存	浓度为 5 μ mol/mL

FC的提取：

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 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。

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 4 μ L FC 标准液和 196 μ L 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 待测液和 196 μ L FC 工作液，5min 后于 500nm 测定A 测定管。

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：

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

$$= 500 \times A \text{ 测定管} \div A \text{ 标准管}$$

C 标准液：5 μ mol/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

$$\begin{aligned} \text{FC 含量} (\mu\text{mol}/\text{mg prot}) &= C \text{ 标准液} \times A \text{ 测定管} \div A \text{ 标准管} \div \text{Cpr} \\ &= 5 \times A \text{ 测定管} \div A \text{ 标准管} \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

(2) 按样本鲜重计算

$$\begin{aligned} \text{FC 含量} (\mu\text{mol}/\text{g}) &= C \text{ 标准液} \times A \text{ 测定管} \div A \text{ 标准管} \div W \\ &= 5 \times A \text{ 测定管} \div A \text{ 标准管} \div W \end{aligned}$$

C 标准液: $5 \mu\text{mol}/\text{mL}$; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL ; W: 样本质量, g/mL

1. 细胞、细菌中FC 含量计算:

$$\begin{aligned} \text{FC 含量} (\mu\text{mol}/10^4\text{cell}) &= C \text{ 标准液} \times A \text{ 测定管} \div A \text{ 标准管} \div \text{细菌或细胞} (10^4\text{cell}/\text{L}) \\ &= 5 \times A \text{ 测定管} \div A \text{ 标准管} \div \text{细菌或细胞} (10^4\text{cell}/\text{L}) \end{aligned}$$

C 标准液: $5 \mu\text{mol}/\text{mL}$ 。

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:

$$\begin{aligned} \text{FC 含量} (\mu\text{mol} / \text{dL}) &= C \text{ 标准液} \times A \text{ 测定管} \div A \text{ 标准管} \times 100\text{mL} \\ &= 500 \times A \text{ 测定管} \div A \text{ 标准管} \end{aligned}$$

准管 C 标准液: $5 \mu\text{mol}/\text{mL}$; 100 mL: 1dL=100

mL。

2. 组织中 FC 含量计算:

(1) 按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{FC 含量} (\mu\text{mol}/\text{mg prot}) &= C \text{ 标准液} \times A \text{ 测定管} \div A \text{ 标准管} \div \text{Cpr} \\ &= 5 \times A \text{ 测定管} \div A \text{ 标准管} \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

(2) 按样本鲜重计算

$$\begin{aligned} \text{FC 含量} (\mu\text{mol}/\text{g}) &= C \text{ 标准液} \times A \text{ 测定管} \div A \text{ 标准管} \div W \\ &= 5 \times A \text{ 测定管} \div A \text{ 标准管} \div W \end{aligned}$$

C 标准液: $5 \mu\text{mol}/\text{mL}$; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL ; W: 样本质量, g/mL

1. 细胞、细菌中FC 含量计算:

$$\begin{aligned} \text{FC 含量} (\mu\text{mol} / 10^4\text{cell}) &= C \text{ 标准液} \times A \text{ 测定管} \div A \text{ 标准管} \div \text{细菌或细胞} (10^4\text{cell}/\text{L}) \\ &= 5 \times A \text{ 测定管} \div A \text{ 标准管} \div \text{细菌或细胞} (10^4\text{cell}/\text{L}) \end{aligned}$$

C 标准液: $5 \mu\text{mol}/\text{mL}$ 。

注意事项:

最低检出限为 $1\text{mmol}/\text{L}$ 。