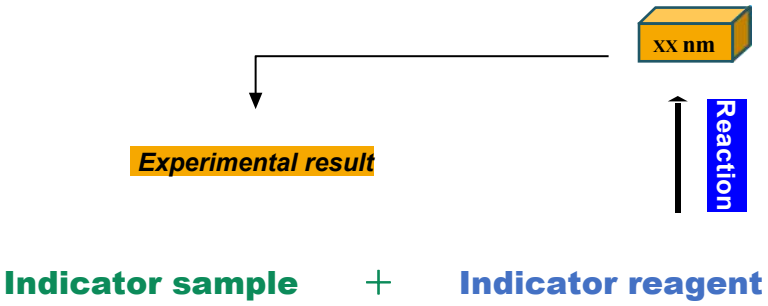
上海茁彩生物科技有限公司

Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

货号：ZC-S0691　　规格：50管/48样

游离胆固醇（FC）含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	无水乙醇50mL	常温保存	自备
工作液	液体50mL×1瓶	4℃保存	–
标准品	粉剂×1支	4℃保存	10mg胆固醇，临用前加入517μL无水乙醇，振荡溶解，即为50μmol/mL的胆固醇标准溶液，再将其用无水乙醇稀释为1μmol/mL的标准品，待测。

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、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器、无水乙醇和蒸馏水。

操作步骤：

一、FC的提取：

1 组织：按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液）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）：提取液体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细胞加入1mL提取液），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。

血清（浆）样品：直接测定。

二、测定操作：

1. 分光光度计预热 30 min，调节波长到 500 nm，蒸馏水调零。
2. 按需取出一定量的工作液，并在 37℃水浴中预热 30min，其余的 4℃保存。

3.在 1.5mL 离心管中加入下列试剂：

	无水乙醇（μL）	标准液（μL）	待测上清（μL）	工作液（μL）
空白管	50			950
标准管		50		950
测定管			50	950

混匀后，室温静置 15min 后于 500nm 下测得吸光度，记为 A 空白管、A 标准管、A 测定管。
空白管和标准管分别只需做 1-2 个。

三、计算公式：

1. 血清（浆）中 FC 含量计算：

FC 含量（μmol/dL）= C 标准液×（A 测定管-A 空白管）÷（A 标准管-A 空白管）×100

=100×（A 测定管-A 空白管）÷（A 标准管-A 空白管）

C 标准液：1μmol/mL；100 mL：单位换算系数，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 空白管）÷（A 标准管-A 空白管）×V 样总÷（Cpr×V 样总）

=（A 测定管-A 空白管）÷（A 标准管-A 空白管）÷Cpr

(2) 按样本鲜重计算

FC 含量（μmol/g 鲜重）= C 标准液×（A 测定管-A 空白管）÷（A 标准管-A 空白管）×V 样总÷W

=（A 测定管-A 空白管）÷（A 标准管-A 空白管）÷W

C 标准液：1μmol/mL；V 样总：加入提取液的体积，1mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

3. 细胞、细菌中 FC 含量计算：

FC 含量（μmol/10^4 cell）=C 标准液×（A 测定管-A 空白管）÷（A 标准管-A 空白管）×V 样总÷500

=0.002×（A 测定管-A 空白管）÷（A 标准管-A 空白管）

C 标准液：1μmol/mL；500：细菌或细胞数量，500 万；V 样总：加入提取液的体积，1mL。注：检测下限：0.25μmol/mL。