

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

微量法 100T/96S

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

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。

组成：

产品名称	FA024-100T/96S	Storage
试剂一：异丙醇（自备）	100ml	--
试剂二：液体	20ml	4°C
试剂三：粉剂	1 瓶	4°C
试剂四：液体	40 μ l	4°C
TC 标准品：液体	1ml	4°C
说明书	一份	

TC 标准品：液体 1ml \times 1 支，0.5 μ mol/ml，4°C 保存。

自备仪器和用品：

水浴锅、可调式移液枪、酶标仪、96 孔板、异丙醇和蒸馏水。

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°C 离心 10min，取上清置冰上待测。
2. 细菌、真菌：先收集 400-500 万细胞或细菌到离心管内，弃上清，加 1ml 试剂一，超声波破碎 1min（强度 20%，超声 2s，停 1s），即 FC 待测液。
3. 血清（浆）样品：直接测定。

测定操作：

1. 酶标仪预热 30 min，调节波长到 500 nm。

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



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°C 水浴 10min。用不完的工作液 4°C 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°C 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°C 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°C 静置 3h 后于 500nm 测定 A 测定管。

注意事项：

- 1、标准管和空白管只要做一管。
- 2、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。

计算公式：

1. 血清（浆）中 FC 含量计算：

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

C 标准液：0.5μmol/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

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

(2)按样本鲜重计算

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

C 标准液：0.5μmol/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：

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

C 标准液：0.5μmol/ml。

最低检出限为 1nmol/ml。

