

游离胆固醇 (FC) 含量检测试剂盒 (可见分光光度法)

产品货号: BA1451

产品规格: 50管/48样

产品简介:

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。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体50mL×1瓶 (自备)	室温
工作液	液体50mL×1瓶	4°C
标准品	粉剂×1支	4°C

溶液的配制:

- 提取液: 自备无水乙醇；
- 标准品: 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的标准液，待测。

技术指标:

最低检出限: 0.055μmol/mL

线性范围: 0.0625-4μmol/mL

注意: 实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、水浴锅、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器、无水乙醇、蒸馏水。

操作步骤:

一、样本处理 (可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献)

- 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°C离心10min, 取上清置冰上待测。
- 细菌、细胞: 按照细胞数量(10⁴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°C, 离心10min, 取上清置于冰上待测。
- 血清(浆)样本: 直接测定。

二、测定步骤

- 可见分光光度计预热30min以上，调节波长至500nm，蒸馏水调零。
- 按需取出一定量的工作液，并在37°C水浴中预热30min，其余的4°C保存。
- 样本测定: 1.5mL离心管中加入下列试剂:

试剂名称 (μL)	空白管	标准管	测定管
无水乙醇	50		



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q_Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

标准液		50	
待测上清			50
工作液	950	950	950

混匀, 室温静置15min后于500nm下测吸光度, 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:

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

C标准液: 标准液的浓度, 1 $\mu\text{mol/mL}$; 100: 单位换算系数, 1dL=100mL。

2. 组织中FC含量计算:

(1) 按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{FC含量} (\mu\text{mol/mg prot}) &= C \text{标准液} \times (A \text{测定管} - A \text{空白管}) \div (A \text{标准管} - A \text{空白管}) \times V \text{样总} \div (C_{\text{pr}} \times V \text{样总}) \\ &= (A \text{测定管} - A \text{空白管}) \div (A \text{标准管} - A \text{空白管}) \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

(2) 按样本质量计算

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

C标准液: 标准液的浓度, 1 $\mu\text{mol/mL}$; 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

$$\begin{aligned} \text{FC含量} (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) &= C \text{标准液} \times (A \text{测定管} - A \text{空白管}) \div (A \text{标准管} - A \text{空白管}) \times V \text{样总} \div 500 \\ &= 0.002 \times (A \text{测定管} - A \text{空白管}) \div (A \text{标准管} - A \text{空白管}) \end{aligned}$$

C标准液: 标准液的浓度, 1 $\mu\text{mol/mL}$; 500: 细菌或细胞数量, 500万; V样总: 加入提取液的体积, 1mL。

注意事项:

如果样本吸光值大于1.5, 建议将样本用提取液稀释后进行测定。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q_Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>