

游离胆固醇(FC)含量检测试剂盒(分光法)

产品编号: MA1626

规格: 50T/48S

产品组成和保存/运输条件

产品组成	MA1626-1 50T/48S	保存条件	有效期	运输条件
试剂一	50mL	2-8℃	自生产之日起 6 个月	湿冰运输 (按季节)
试剂二	1 瓶	2-8℃		
试剂三	100μL	2-8℃		
FC 标准品(500μM)	1mL	2-8℃		
说明书	1 份			

产品简介

游离胆固醇(Free Cholestenone,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。

游离胆固醇(FC)含量检测试剂盒(分光法)即 Free Cholestenone(FC) Content Assay Kit, 检测原理为: 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。

本产品最低检出限为 1μM。

自备材料

异丙醇、蒸馏水、可见分光光度计、水浴锅、可调式移液枪、玻璃比色皿

使用方法

1. 溶液的配制:

(1) 提取液: 自备异丙醇, 大约需要 50mL, 常温保存。

(2) 试剂三: 用前使用掌上离心机将液体甩至底部。

(3) FC 标准品: 500μM 的胆固醇标准品。

(4) 工作液的配制: 临用前, 吸取约 0.8mL 试剂一分别加入试剂二和试剂三瓶中, 充分溶解后再全部转移回试剂一瓶中, 充分混匀, FC 工作液置于 37℃ 水浴 10min (临用前预热)。用不完的工作液 2~8℃ 保存一周。

2. FC 的提取:

(1) 组织中 FC 的提取: 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, 8000×g, 4℃ 离心 10min, 取上清, 即 FC 待测液。

(2) 细胞/细菌中 FC 的提取: 先收集 400 万~500 万细胞或细菌到离心管内, 离心后弃上清, 加 1mL 提取液, 超声波破碎 1min (强度 20%, 超声 2s, 停 1s), 8000×g, 4℃ 离心 10min, 取上清, 即 FC 待测液。



(3) 血清（浆）样品：直接测定。

3. 检测：

(1) 分光光度计预热 30min，调节波长到 500nm，用蒸馏水调零。

(2) 依次在玻璃比色皿中按下表加样：

试剂（μL）	空白管	标准管	测定管
样本			100
FC 标准品		100	
提取液	100		
工作液	900	900	900

(3) 混匀，37℃静置 3h，反应完成后于 500nm 处测定吸光值 A，分别记为 A_{空白}、A_{标准}和 A_{测定}。

【注】

①空白管和标准管只测 1 次。

②若测定管产生白色混浊，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。

4. 计算：

(1) 血清（浆）中 FC 含量计算：

$$\text{FC 含量}(\mu\text{mol/dL}) = C_{\text{标准}} \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times 100 = 50 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}})$$

(2) 组织中 FC 含量计算：

① 按样本蛋白浓度计算：

$$\text{FC 含量}(\mu\text{mol/mg prot}) = C_{\text{标准}} \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div \text{Cpr} = 0.5 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div \text{Cpr}$$

② 按样本质量计算：

$$\text{FC 含量}(\mu\text{mol/g 鲜重}) = C_{\text{标准}} \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W = 0.5 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W$$

(3) 细菌或细胞中 FC 含量计算：

$$\begin{aligned} \text{FC 含量}(\mu\text{mol}/10^4 \text{ cells}) &= C_{\text{标准}} \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div \text{细菌或细胞}(10^4 \text{ cells/L}) \\ &= 0.5 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div \text{细菌或细胞}(10^4 \text{ cells/L}) \end{aligned}$$

式中：C_{标准}：标准品浓度（0.5μmol/mL）

1dL=100mL

W=样品质量(g/mL)

Cpr：样本蛋白质浓度(mg/mL)

【注】提取液中含有使蛋白变性的成分，故按蛋白浓度计算时需要重新提取蛋白进行测定。

注意事项

1. 正式测定前务必取 2~3 个预期差异较大的样本做预测定。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
3. 本产品仅限科研实验使用，禁止用于临床、食品、化妆品等非科研场景。

S260901

大连美仑生物技术有限公司

官网: <https://www.meilunbio.com/>

电话/邮箱: 0411-62910999 sales@meilunbio.com

本产品仅供科研使用

