

游离胆固醇 (FC) 含量检测试剂盒 (快速)

检测意义及原理:

胆固醇 (Cholesterol) 是广泛存在于动物体内的一种环戊烷多氢菲衍生物, 可作为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, 也是构成细胞膜的主要成分。游离胆固醇 (free cholesterol, FC) 是指在血液中呈现非酯化的游离状态的胆固醇, 它是脂类测定的代表物质, 其含量变化对于脂代谢研究及肝脏、代谢系统疾病的临床诊疗具有重要意义。

本试剂盒采用可见光比色法在酶标板上操作, 标准品和待测样品中的游离胆固醇与显色液发生反应, 在 505nm 处测 OD 值, 游离胆固醇含量与此 OD 值成正比, 可通过绘制标准曲线求出样品中游离胆固醇浓度。

试剂盒特点:

- 线性范围宽:** 本试剂盒采用最新方法改良配方, 可以检测到 0.625 ~ 20mmol/L 范围内的游离胆固醇。
- 特异性强:** 本试剂盒基于最新科研成果研发, 具有对游离胆固醇的检测高度专一、不受其他因素影响的优势。
- 简单快速:** 室温条件, 30min 内即可完成。
- 大通量操作:** 本试剂盒反应敏感度适中, 实验结果稳定, 不会出现因为 2 ~ 3min 之时间差导致前后加样各组实验结果变化很大的情况。因此可一批次操作多个样本, 从而提升实验效率。

试剂盒组分: (保存: 2-8℃避光, 有效期: 1年)

名 称	规格 (48 T)	规格 (96 T)
微孔板	8 × 6 条	8 × 12 条
游离胆固醇标准品	0.5mL	0.5mL
提取液	50mL	100mL
显色液	10mL	20mL
产品说明书	1份	1份

本试剂盒适用于血清、血浆、组织匀浆、细菌、细胞培养上清及其它样本。

需要自备试剂和器材:

- 酶标仪、离心机、移液器、天平、制冰机及实验室常规仪器。
- 多种规格单通道移液器或 8 通道移液器。
- 不同规格的试管和离心管, 加样槽。
- 漩涡混匀器。
- 去离子水或蒸馏水。

标本收集:

- 组织标本:** 按照动物组织质量 (g) : 提取液 (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。8000rpm 4℃ 离心 10min, 取上清置于冰浴中待测。

2. 细菌或细胞标本：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) 加入提取液，冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w，超声 2 秒，间隔 3 秒，总时间 3min)；震荡提取 15min，然后 8000rpm 4°C 离心 10min，取上清置于冰浴中待测。

3. 血清等液体标本：直接测定。

备注：待测样本应尽早检测， $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 保存 48 小时；更长时间须冷冻 (-20°C 或 -80°C) 保存，避免反复冻融。

试剂准备：

标准品的配置：

A, 游离胆固醇标准液配制：在游离胆固醇标准品的试管中加入 1mL 提取液，混匀即得 20mmol/L 游离胆固醇标准工作液。

B, 标准液浓度梯度配制：如下图操作

组别	blank	S1	S2	S3	S4	S5	S6
游离胆固醇标准液 (μL)	0	1	2	4	8	16	32
提取液 (μL)	32	31	30	28	24	16	0
稀释后胆固醇浓度 (mmol/L)	0	0.625	1.25	2.5	5	10	20

注意：1, 样品在什么溶液中，标准品也需用什么溶液稀释，这样可以减小误差。

2, 初次测定后知道样品的浓度范围后，可以对标准品在样品浓度范围附近密集测定。

检测程序：

1. 加显色液：每个标准液及待测样品酶标板孔内加入显色液 198 μL 。
2. 加待测样本：将配制好的标准液及待测样品各取 2 μL 加入到上述各对应板孔中，混匀，室温静置 25min。
3. 读数：将酶标板放入酶标仪中，在 505nm 处读 OD 值。

结果判断与计算：

1. 所有 OD 值建议减除空白孔值后再进行计算，如空白孔 OD 低于 0.1，也可以直接计算。
2. 以标准品浓度作横坐标，OD 值作纵坐标，手工绘制或用软件绘制标准曲线，根据样品 OD 值计算出相应含量，再乘以稀释倍数即可。

注意事项

1. 请自备 1.5mL 离心管及离心管架等常规检测设备及仪器。
2. 正式测定之前选择 2 ~ 3 个预期差异大的样本做预测定，以熟悉实验流程。
3. 检测时所有试剂都要恢复到室温，试剂盒开封后剩余试剂放回袋中 1 个月内用完。
4. 在酶标板上操作，如果手动难于混匀，可以在酶标仪中选择“震荡 5s”模式，进行混匀处理。
5. 实验前请认真仔细阅读此说明书，说明书以试剂盒内纸质版为准。
6. 本试剂盒仅用于科研，不能用于临床诊断！
7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性口罩和手套操作。

相关文献:

1: Low expression of dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing nonintegrin in non-Hodgkin lymphoma and a significant correlation with b2-microglobulin

Med Oncol (2014) 31:202 DOI 10.1007/s12032-014-0202-6.

2: APRIL promotes non-small cell lung cancer growth and metastasis by targeting ERK1/2 signaling

Oncotarget, 2017, Vol. 8, (No. 65), pp: 109289-109300

3: Knockdown of SALL4 inhibits the proliferation, migration, and invasion of human lung cancer cells in vivo and in vitro

Ann Transl Med 2020;8(24):1678 | <http://dx.doi.org/10.21037/atm-20-7939>

4: NF90 stabilizes cyclin E1 mRNA through phosphorylation of NF90-Ser382 by CDK2

Ding et al. Cell Death Discovery (2020) 6:3 <https://doi.org/10.1038/s41420-020-0236-9>.

注: 更多使用本产品的文献请参考威奥生物官网。