

游离胆固醇(FC)检测试剂盒(COD-PAP 双试剂比色法)

产品简介:

胆固醇(Cholesterol)又称胆甾醇, 是一种环戊烷多氢菲的衍生物, 广泛存在于动物体内, 其中脑、神经组织最丰富, 在肾、脾、皮肤、肝和胆汁中含量也较高, 用酶学方法测定游离胆固醇(FC)是生化检测中的常用方法, 其特点是: 1、灵敏度、准确度、精密度均高; 2、使用温和的反应条件; 3、操作简便; 4、适用于自动分析仪。

Leagene 游离胆固醇(FC)检测试剂盒(COD-PAP 双试剂比色法)又称胆固醇氧化酶法或胆固醇氧化酶-过氧化物酶偶联法等, 血液中的胆固醇约 1/3 为游离胆固醇, 2/3 为与脂肪酸结合的胆固醇酯, 后者被胆固醇酯酶(CEH)水解为游离胆固醇, 游离胆固醇被胆固醇氧化酶(COD)氧化成胆甾烯酮, 并产生过氧化氢, 再经过氧化物酶(POD)催化, 使 4-氨基安替比林与酚(三者合称 PAP)反应, 生成红色醌亚胺色素(Trinder 反应), 当 CEH 不存在时胆固醇酯不能被水解, 因而只能检测到游离胆固醇的含量, 分光光度计在 500~520nm 处进行比色测定, 盒用于定量测定人或动物的血清、血浆、脑脊液、细胞、组织等样本中的游离胆固醇含量。该试剂盒仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

| 名称 | | 编号 | TC1229 100T | Storage |
|--|---------------|----------------|----------------|---------|
| 试剂(A): Good's 溶液 | Good's Buffer | 显色剂 活性剂、稳定剂 | 2×25ml | 4℃ |
| | | | | |
| | | | | |
| 试剂(B): COD-POD 溶液 | 胆固醇氧化酶、 POD | 4-氨基安替比林 | 2×25ml | -20℃ 避光 |
| | | | | |
| 临用前, 按 A: B=1: 1 混合, 即为 COD-PAP 工作液, 4℃保存。 | | | | |
| 试剂(C): FC 标准(5mmol/L) | | | 1ml | -20℃ 避光 |
| 试剂(D): ddH ₂ O | | | 1ml | RT |
| 使用说明书 | | | 1 份 | |

自备材料:

- 1、生理盐水或 PBS
- 2、离心管、小试管或 96 孔板、水浴锅或恒温箱、分光光度计或酶标仪、全自动或半自动生化分析仪

操作步骤(仅供参考):
1、样本处理:

①血清、血浆、脑脊液样本: 从待测样本中分离出的血清或血浆不应有溶血, 直接检测, 如超过线性范围, 用生理盐水稀释后检测。

② 细胞样本:

a.取适量的细胞(一般推荐 $>10^6$ 以上), 1000g 离心 10min, 弃上清, 留取沉淀。

b.用 PBS 或生理盐水清洗 1~2 次, 1000g 离心 10min, 弃上清, 留取沉淀。

c.加入 200~300 μ l 的 PBS 或生理盐水匀浆, 冰浴条件下超声破碎细胞, 功率 300W, 每次 3~5s, 间隔 30s, 重复 3~5 次; 亦可手动匀浆, 制备好的匀浆液不可离心; 亦可用 1~2% Triton X-100 冰浴 30~60min, 制备好的裂解液不可离心。

③组织样本: 准确称取适量组织样本, 按质量(g): 生理盐水或 PBS(ml)=1: 9 的比例, 加入生理盐水或 PBS, 冰浴条件下手动或机械匀浆, 2500~3000g 离心 10min, 取上清。

2、FC 测定

| 酶标仪、全自动生化分析仪 FC 测定 | | | |
|--------------------|-----|-----|-----|
| 加入物(μ l) | 空白孔 | 标准孔 | 待测孔 |
| ddH ₂ O | 3 | - | - |
| TC 标准(5mmol/L) | - | 3 | - |
| 待测样本 | - | - | 3 |
| COD-PAP 工作液 | 300 | 300 | 300 |

| 分光光度计(1ml 比色杯)、半自动生化分析仪 FC 测定 | | | |
|-------------------------------|------|------|------|
| 加入物(ml) | 空白管 | 标准管 | 待测管 |
| ddH ₂ O | 0.01 | - | - |
| TC 标准(5mmol/L) | - | 0.01 | - |
| 待测样本 | - | - | 0.01 |
| COD-PAP 工作液 | 1 | 1 | 1 |

| 普通分光光度计(2ml 比色杯)FC 测定 | | | |
|-----------------------|------|------|------|
| 加入物(ml) | 空白管 | 标准管 | 待测管 |
| ddH ₂ O | 0.02 | - | - |
| TC 标准(5mmol/L) | - | 0.02 | - |
| 待测样本 | - | - | 0.02 |
| COD-PAP 工作液 | 2 | 2 | 2 |

①各种仪器按上表依次加入试剂。充分混匀, 37°C水浴中孵育 5min。

②立即用相应仪器测定 500~520nm 吸光度，以空白孔(管)调零，读取标准孔(管)、测定孔(管)的吸光度，分别记为 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{测定}}$ 。

机器参数：

| | |
|---------|-----------|
| 主波长/次波长 | 500/600nm |
| 反应类型 | 终点法 |
| 反应方向 | 升反应(+) |

计算公式：

血清、血浆等液体样本(空白调零)：

$$FC(\text{mmol/L}) = A_{\text{测定}} / A_{\text{标准}} \times 5$$

血清、血浆等液体样本(全自动生化分析仪)：

$$FC(\text{mmol/L}) = (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times 5$$

组织样本(空白调零)：

$$FC(\text{mmol/g}) = A_{\text{测定}} / A_{\text{标准}} \times 5 \times V_2 / (m \times 1000)$$

组织样本(全自动生化分析仪)：

$$FC(\text{mmol/g}) = (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times 5 \times V / (m \times 1000)$$

细胞样本(空白调零)：

$$FC(\text{mmol/L}) = A_{\text{测定}} / A_{\text{标准}} \times 5 \times V_2 / V_1$$

细胞样本(全自动生化分析仪)：

$$FC(\text{mmol/L}) = (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times 5 \times V_2 / V_1$$

式中： m = 组织样本取样量 (g)

V_1 = 细胞样本取样量 (ml)

V_2 = 样本匀浆液总体积 (ml)

参考区间：

【FC 标准(5mmol/L)=442.48mg/dl】

健康成年人理想范围：<1.7mmol/L(<67mg/dl)

性能指标:

| | |
|-------|--|
| 外观 | 无色至淡黄色澄清液体 |
| 线性范围 | 0.1~13mmol/L(3.6~500mg/dl), $R^2 > 0.95$ |
| 灵敏度 | 检测下限 0.1mmol/L(3.6mg/dl) |
| 变异系数 | 批内 < 3%, 批间 < 5% |
| 空白吸光值 | < 0.1(1cm 光径) |
| 干扰因素 | 胆红素 < 410 μ mol/L; 血红蛋白 < 7g/L; 甘油三酯 < 28.5mmol/L 时, 对结果无明显影响。 |

注意事项:

- 1、上述低温试剂避免反复冻融, 以免失效或效率下降。
- 2、COD-PAP 工作液如不经常使用, 应充分溶解后分装-20 $^{\circ}$ C保存, 可 4 $^{\circ}$ C短期保存。
- 3、本法可直接用于检测脑脊液中的 FC 含量, 但不能直接检测尿液中的 FC 含量, 因为未经处理的尿液中含有还原性物质, 影响过氧化物酶反应。
- 4、检测 FC 的血清或血浆宜用 EDTA 或肝素抗凝, 如不能及时测定, 密闭保存, 4 $^{\circ}$ C可稳定 1 周, -20 $^{\circ}$ C可以稳定半年以上。
- 5、本法线性范围可达 13mmol/L, 如果样本 FC 浓度过高, 结果可能呈假性降低, 应用生理盐水稀释后重测, 结果乘以稀释倍数。
- 6、该试剂盒既可作终点法检测, 又可作速率法检测。
- 7、本法不适于检测总胆固醇的浓度, 如需检测总胆固醇(TC)含量, 请选择相关产品。
- 8、试剂开封后请尽快使用, 以防影响后续实验效果。

有效期: 6 个月有效; 低温运输, 按要求保存。

相关产品:

| 产品编号 | 产品名称 |
|--------|-------------------------------|
| DC0032 | Masson 三色染色液 |
| DP0013 | GUS 染色液(即用型) |
| DZ2011 | 环保浸蜡脱蜡透明液 |
| PT0001 | BCA 蛋白定量试剂盒 |
| PW0053 | Western 抗体洗脱液(碱性) |
| TC0711 | 葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD 微板法) |
| TC1213 | 总胆固醇(TC)检测试剂盒(COD-PAP 单试剂比色法) |
| TO1013 | 丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法) |