

## 游离胆固醇(FC)检测试剂盒(COD-PAP 单试剂比色法)

### 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，用酶学方法测定总胆固醇(Total Cholesterol, TC)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。

游离胆固醇(FC)检测试剂盒(COD-PAP 单试剂比色法)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，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	ADS123TC0 100T	Storage
试剂(A): COD-PAP 工作液	Good's Buffer		2×50ml	-20℃ 避光
	胆固醇氧化酶			
	过氧化物酶			
	4-氨基安替比林			
	稳定剂			
试剂(B): FC 标准(5mmol/L)			1ml	-20℃ 避光
试剂(C): ddH <sub>2</sub> O			1ml	RT
使用说明书			1 份	

### 自备材料

- 1、生理盐水或 PBS、蛋白定量试剂盒
- 2、电子天平、剪刀、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、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 $\mu$ 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 的比例混合，在冰浴条件下手动或机械匀浆，2500~3000g 离心 10min，取上清。

## 2、TC 测定

酶标仪 FC 测定			
加入物( $\mu$ l)	空白孔	标准孔	待测孔
ddH <sub>2</sub> O	3	-	-
FC 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)FC 测定			
加入物(ml)	空白管	标准管	待测管
ddH <sub>2</sub> O	0.01	-	-
FC 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 <sub>2</sub> O	0.02	-	-
FC 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 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{测定}}$ 。

### 计算公式:

#### 血清、血浆等液体样本(空白调零):

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

#### 组织样本(空白调零):

$$\text{按样本质量算: } FC(\text{mmol/g}) = A_{\text{测定}}/A_{\text{标准}} \times 5 \times V_2 / (m \times 1000)$$

$$\text{按蛋白浓度算: } FC(\text{mmol/g pr}) = A_{\text{测定}}/A_{\text{标准}} \times 5 \times V_2 / (C_{\text{pr}} \times V_2) = A_{\text{测定}}/A_{\text{标准}} \times 5 / C_{\text{pr}}$$

#### 细胞样本(空白调零):

$$\text{按细胞数量算: } FC(\text{mmol/L}) = A_{\text{测定}}/A_{\text{标准}} \times 5 \times V_2 / N$$

式中:  $m$ =组织样本取样质量 (g)

$V_1$ =细胞样本取样量 (ml)

$V_2$ =样本匀浆液总体积 (ml)

$C_{\text{pr}}$ =样本蛋白浓度 (g/L)

$N$ =细胞数量 (以万计)

**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)

### 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℃保存, 可 4℃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℃可稳定 1 周, -20℃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; 低温运输, 按要求保存。