

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。

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	Storage
		ADS124TC0 100T	
试剂(A): Good's 溶液	Good's Buffer	2×25ml	4℃
	显色剂		
	活性剂、稳定剂		
试剂(B): COD-POD 溶液	胆固醇氧化酶、POD	2×25ml	-20℃ 避光
	4-氨基安替比林		
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 $A_{标准}$ 、 $A_{测定}$ 。

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):

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

血清、血浆等液体样本(全自动生化分析仪):

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

组织样本(空白调零):

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

组织样本(全自动生化分析仪):

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

细胞样本(空白调零):

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

细胞样本(全自动生化分析仪):

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

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℃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。