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		GCTC1229 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_2O		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

3、 水浴锅或恒温箱

4、 分光光度计或酶标仪

5、 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 200~300μl 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(μl)	空白孔	标准孔	待测孔
ddH_2O	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_2O	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_2O	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℃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):

$FC(mmol/L)= A_{测定}/A_{标准}\times 5$

血清、血浆等液体样本(全自动生化分析仪):

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

组织样本(空白调零):

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

组织样本(全自动生化分析仪):

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

细胞样本(空白调零):

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

细胞样本(全自动生化分析仪):

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

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<410μmol/L；血红蛋白<7g/L；甘油三脂<28.5mmol/L 时，对结果无明细影响。

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。

有效期：6 个月有效；4℃运输，-20℃保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
GCDC0032	Masson 三色染色液
GCDP0013	GUS 染色液(即用型)
GCDZ2011	环保浸蜡脱蜡透明液
GCPT0001	BCA 蛋白定量试剂盒
GCPW0053	Western 抗体洗脱液(碱性)
GCTC0711	葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD 微板法)
GCTC1213	总胆固醇(TC)检测试剂盒(COD-PAP 单试剂比色法)
GCTO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)