游离胆固醇（FC）含量检测试剂盒说明书

规格：96 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。

2. 正式检测前选取 2~3 个样本进行预检测。

3. 本试剂盒仅用于科研。

4. 若ΔA 超过 0.8，请进用试剂一将待测样本稀释，直至ΔA 小于 0.8，再进行测定，并在计算公式中乘以稀释倍数。

5. 测定管如产生白色浑浊，可将待测液用试剂一稀释 2-5 倍测定。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
试剂一	105 mL×1	常温	
试剂二	20 mL×1	4℃	
试剂三	100 μL×1	4℃避光	
试剂四	100 μL×1	4℃避光	

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

四、样品制备

1. 组织：按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一）进行冰浴匀浆，然后，8000 g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

2. 细菌/细胞：按照细菌/细胞数量（10^4 个）：试剂一体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 试剂一），冰浴超声波破碎细胞（功率 200 W，超声 3 秒，间隔 10 秒，重复 30 次）；然后 8000 g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

3. 液体样本：澄清的液体的样本直接测定，若浑浊则离心后取上清液检测。

五、测定步骤

1.酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 500 nm 处。

2. **工作液的配制**：临用前，吸取约 0.8 mL 试剂二分别加入试剂三和试剂四瓶中，充分溶解后再全部转移回试剂二瓶中，充分混匀，工作液使用前置于 37℃水浴 10 min。用不完的工作液 4℃保存一个月。

2.在 96 孔板中依次加入：

	测定管	空白管
样本（μL）	20	-
试剂一（μL）	-	20
工作液（μL）	180	180
充分混匀后，37℃静置 1 h 后测定 500 nm 吸光度值，记 A 测定、A 空白，ΔA=A 测定-A 空白。空白管只需测 2~3 次。		

六、计算

标准方程

标准条件下测得回归方程为 y=0.4133x-0.0104，R^2=0.9997，x 为标准品浓度（μmol/mL），y 为吸光值ΔA。

1. 按照液体体积计算：

游离胆固醇含量（μmol/mL）=（ΔA+0.0104）÷0.4133=2.42×（ΔA+0.0104）

2. 按照样本质量计算：

游离胆固醇含量（μmol/g 鲜重）=（ΔA+0.0104）÷0.4133×V 样÷（W×V 样÷V 提取）=2.42×（ΔA+0.0104）÷W

3. 按照蛋白质浓度计算（需另测蛋白浓度）：

游离胆固醇含量（μmol/mg prot）=（ΔA+0.0104）÷0.4133×V 样÷（V 样×Cpr）=2.42×（ΔA+0.0104）÷Cpr

4. 按细菌/细胞数量计算：

游离胆固醇含量（μmol/10^4 cell）=（ΔA+0.0104）÷0.4133÷（N×V 样÷V 提取）=2.42×（ΔA+0.0104）÷N

V 样：加入反应体系中样本体积，0.02 mL；V 提取：加入提取液体积，1 mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；N：细菌/细胞数量，万个；

七、产品简介

游离胆固醇是生物体内未发生酯化的活性胆固醇组分，是细胞膜结构与脂质信号的重要组成物质。其参与细胞膜流动性调控、脂质转运与类固醇物质合成，含量异常可直接反映机体脂质代谢紊乱与血脂稳态失衡，是评价动物血脂健康与脂质代谢水平的重要生理指标。