

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：GBQ063

产品规格：48T(44 samples)/96T(92 samples)

检测仪器：酶标仪(500-520 nm)

Elabscience®游离胆固醇(FC)比色法测试盒

Free Cholesterol (FC) Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

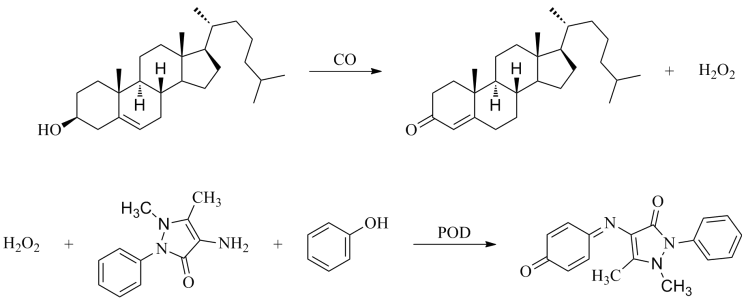
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清、血浆、动物组织样本中的游离胆固醇含量。

检测原理

游离胆固醇(Free Cholesterol, FC)在胆固醇氧化酶(Cholesterol oxidase, CO)的氧化作用下生成 4-胆甾烯酮和过氧化氢。过氧化氢在 4-氨基安替吡啉和酚存在时, 经过氧化物酶催化, 反应生成苯醌亚胺非那踪的红色醌类化合物, 其颜色深浅与游离胆固醇含量成正比。其检测原理如下图:



提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	酶工作液 (Enzyme Working Solution)	15 mL × 1 瓶	30 mL × 1 瓶	2-8℃ 避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	5.17 mM 胆固醇标准液 (5.17 mM Cholesterol Standard)	0.2 mL × 1 支	0.2 mL × 1 支	2-8℃ 保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔 × 1 块	96 孔 × 1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(500-520 nm，最佳检测波长 510 nm)

试剂：无水乙醇

试剂准备

试剂盒中的试剂平衡至室温。

样本准备

① 样本处理

样本要求：样本中不能添加还原性物质，如抗坏血酸、谷胱甘肽等。

组织样本：常规匀浆处理(匀浆介质为无水乙醇)。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.07-24 mmol/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	小鼠血清	不稀释
人血浆	不稀释	兔血清	不稀释
大鼠血清	不稀释	10%大鼠肾组织	不稀释

注：稀释液为生理盐水(0.85%)或 1×PBS(0.01 M, pH 7.4)。

实验关键点

- ① 试剂一取用时应倒出部分，再使用，避免试剂污染。
- ② 样本和标准品加入板孔中时应触底加入。
- ③ 测定 OD 值时，酶标板孔中不能有气泡。

操作步骤

- ① 空白孔：取 5 μL 双蒸水，加入酶标板对应孔中。
标准孔：取 5 μL 标准品，加入酶标板对应孔中。
样本孔：取 5 μL 待测样本，加入酶标板对应孔中。
 - ② 向步骤①中的各孔加入 250 μL 试剂一。
 - ③ 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min，酶标仪 510 nm 波长，测定 OD 值。
- 注：试剂加入酶标板孔中，应触板底加入；慢加样，避免产生气泡。(气泡影响测定结果)

操作表

	空白孔	标准孔	样本孔
双蒸水(μL)	5	--	--
标准品(μL)	--	5	--
待测样本(μL)	--	--	5
试剂一(μL)	250	250	250
37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min，酶标仪 510 nm 波长，测定 OD 值。			

结果计算

血清(浆)等液体样本中 FC 含量计算公式:

$$\text{FC 含量 (mmol/L)} = \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times c \times f$$

组织中 FC 含量计算公式:

$$\text{FC 含量 (mmol/kg wet weight)} = \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times c \times f \div \frac{m}{V}$$

注解:

ΔA_1 : 样本 OD 值-空白 OD 值

ΔA_2 : 标准 OD 值-空白 OD 值

c: 标准品浓度 (5.17 mmol/L)

f: 样本加入检测体系前稀释的倍数

m: 组织样本质量 (g)

V: 无水乙醇的体积 (mL)

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.07-24 mmol/L	平均批间差	5.2 %
灵敏度	0.07 mmol/L	平均批内差	1.9 %
平均回收率	97 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

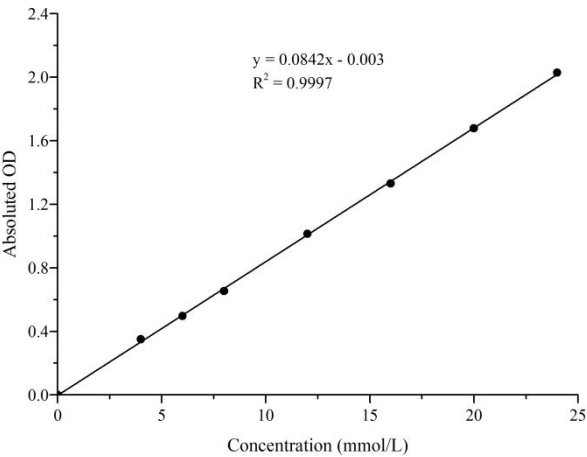
① 标准品稀释：将24 mmol/L胆固醇标准品用双蒸水稀释成以下的浓度：

标准品浓度(mmol/L)	0	4	6	8	12	16	20	24
24 mmol/L 胆固醇(μ L)	0	100	150	200	300	400	500	600
双蒸水(μ L)	600	500	450	400	300	200	100	0

② 不同浓度的标准品加样量5 μ L，按照操作步骤进行实验，读取各点OD值如下表所示：

标准品浓度 (mmol/L)	0	4	6	8	12	16	20	24
OD 值	0.078	0.420	0.567	0.734	1.082	1.380	1.767	2.122
	0.077	0.436	0.581	0.728	1.102	1.436	1.746	2.092
平均 OD 值	0.078	0.428	0.574	0.731	1.092	1.408	1.756	2.107
绝对 OD 值	0.000	0.351	0.497	0.653	1.014	1.331	1.679	2.029

②绘制标曲(如下图):



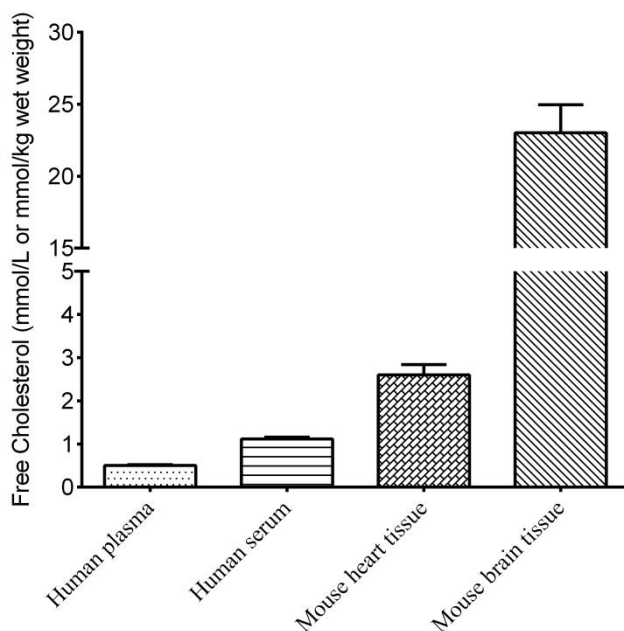
附录2 实例分析

例如检测小鼠脑组织(数据仅供参考):

取5 μL 的10%小鼠脑组织匀浆液,按操作表检测,结果如下:测定孔平均OD值为0.318,空白平均OD值为0.089,标准孔平均OD值为0.519,计算结果为:

$$\begin{aligned} \text{FC 含量} &= (0.318 - 0.089) \div (0.519 - 0.089) \times 5.17 \\ (\text{mmol/kg wet weight}) &\times 0.9 \div 0.1 = 24.78 \text{ mmol/kg wet weight} \end{aligned}$$

按照说明书,测定人血浆(加样量5 μL)、人血清(加样量5 μL)、小鼠心组织(10%组织匀浆,加样量5 μL)、小鼠脑组织(10%组织匀浆,加样量5 μL)中的游离胆固醇含量(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
绝对 OD 值低	样本值低	减小稀释倍数
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数, 重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本, 重新检测
样本测量结果 >24.0mmol/L	样本浓度太高	选择合适稀释倍数, 重新检测

声明

1. 试剂盒仅供研究使用, 如将其用于临床诊断或任何其他用途, 我公司将不对因此产生的问题负责, 亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器, 严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低, 请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中, 建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责, 不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责, 使用前请充分考虑样本可能的使用量, 预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Peng Hao, Chen Binbin, Wei Wei et al. N-methyladenosine (mA) in 18S rRNA promotes fatty acid metabolism and oncogenic transformation.[J] .Nat Metab, 2022, 4: 1041-1054. IF:19.864
2. Inmaculada López-Almela, Marina Romani-Pérez, Bullich-Vilarrubias C, et al. Bacteroides uniformis combined with fiber amplifies metabolic and immune benefits in obese mice[J]. Gut Microbes, 2021, 13(1), 1865706. IF:10.245
3. Omar N, Frank J, Kruger J, et al. Effects of High Intakes of Fructose and Galactose, with or Without Added Fructooligosaccharides, on Metabolic Factors, Inflammation, and Gut Integrity in a Rat Model[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2021:2001133. IF:5.914
4. Zhu T, Wang Z, Zou T, et al. SOAT1 Promotes Gastric Cancer Lymph Node Metastasis Through Lipid Synthesis. Front Pharmacol. 2021; 12:769647. IF:5.81
5. Zeng X Peng, Wang L J, Guo L H, et al. Dasatinib ameliorates chronic pancreatitis induced by caerulein via anti- fibrotic and anti-inflammatory mechanism[J]. Pharmacological Research, 2019, 147, 104357. IF:5.574
6. Liu K , Zhao X , Qi X , et al. Design, synthesis, and biological evaluation of a novel dual peroxisome proliferator-activated receptor alpha/delta agonist for the treatment of diabetic kidney disease through anti-inflammatory mechanisms[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2021, 218, 113388. IF:5.572
7. Jung D S, Son Y J, Shin J M, et al. Gymnaster Koraiensis Extract Alleviated Metabolic Syndrome Symptoms and Stimulated UCP1-Independent Energy Consumption via AMPK Activation in White Adipose Tissue[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2020. IF:5.309
8. Wang L J, He L, Hao L, et al. Isoliquiritigenin ameliorates caerulein-induced chronic pancreatitis by inhibiting the activation of PSCs and pancreatic infiltration of macrophages[J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2020. IF:4.486
9. Ar?can E Y, Kayal? D G, Karaca B U, et al. Reproductive effects of subchronic exposure to acetamiprid in male rats[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 1-10. IF:3.998
10. Luo Y, Qiao X, Ma Y, et al. Disordered metabolism in mice lacking irisin[J]. Scientific Reports, 2020, 10(2). IF:3.998
11. Wang C , Hu N H , Yu L Y , et al. 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside

- attenuates hepatic steatosis via IKK β /NF- κ B and Keap1-Nrf2 pathways in larval zebrafish[J]. *BIOMEDICINE & PHARMACOTHERAPY*, 2020, 127: 110138. IF:3.743
12. Yu H, Zhang L, Chen P, et al. Dietary bile acids enhance growth, and alleviate hepatic fibrosis induced by a high starch diet via AKT/FOXO1 and cAMP/AMPK/SREBP1 pathway in *Micropterus salmoides*[J]. *Frontiers in Physiology*, 2019, 10. IF:3.367
 13. Gomaa A A, Farghaly H S M, Dalia A, et al. Inhibition of adiposity and related metabolic disturbances by polyphenol-rich extract of *Boswellia serrata* gum through alteration of adipo/cytokine profiles[J]. *Inflammopharmacology*, 2018: 1-11. IF:3.304
 14. ul Haq M E, Akash M S H, Rehman K, et al. Chronic exposure of bisphenol A impairs carbohydrate and lipid metabolism by altering corresponding enzymatic and metabolic pathways[J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2020: 103387. IF:3.292
 15. Messiha B A S, Ali M R A, Khattab M M, et al. Perindopril ameliorates experimental Alzheimer's disease progression: role of amyloid β degradation, central estrogen receptor and hyperlipidemic-lipid raft signaling[J]. *Inflammopharmacology*, 2020. IF:3.283
 16. Kilany O E, Abdelrazek H M A, Aldayel T S, et al. Anti-obesity potential of *Moringa olifera* seed extract and lycopene on high fat diet induced obesity in male Sprague Dawley rats[J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2020, 27(10): 2733-2746. IF:2.802
 17. Akinnuga A M, Siboto A, Khumalo B, et al. Bredemollic Acid Improves Cardiovascular Function and Attenuates Endothelial Dysfunction in Diet-Induced Prediabetes: Effects on Selected Markers[J]. *Cardiovascular Therapeutics*, 2020, 2020. IF:2.538
 18. Badmus O O, Sabinari I W, Olatunji L A. Dexamethasone increases renal free fatty acids and xanthine oxidase activity in female rats: could there be any gestational impact?[J]. *Drug and Chemical Toxicology*, 2020: 1-12. IF:2.405
 19. Gao G, Xie Z S, Li E W, et al. Dehydroabietic acid improves nonalcoholic fatty liver disease through activating the Keap1/Nrf2-ARE signaling pathway to reduce ferroptosis[J]. *Journal of Natural Medicines*, 2021:1-13. IF:2.343
 20. Wang F, Chen H, Chen Y, et al. Diet-induced obesity is associated with altered expression of sperm motility-related genes and testicular post-translational modifications in a mouse model[J]. *Theriogenology*, 2020. IF:2.094
 21. Akinnuga A M, Siboto A, Khumalo B, et al. Bredemollic Acid Ameliorates Selected Liver Function Biomarkers in a Diet-Induced Prediabetic Rat Model[J]. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2020, 2020. IF:2.055
 22. Rahman S U, Huang Y, Zhu L, et al. Tea polyphenols attenuate liver inflammation by

- modulating obesity-related genes and down-regulating COX-2 and iNOS expression in high fat-fed dogs[J]. BMC Veterinary Research, 2020, 16(1): 1-12. IF:1.835
23. Adeyemi W J, Abdussalam T A, Abdulrahim A, et al. Elevated, sustained, and yet reversible biotoxicity effects of lead on cessation of exposure: Melatonin is a potent therapeutic option[J]. Toxicology and Industrial Health, 2020, 36(7): 477-486. IF:1.708
 24. Hassan S, Moustafa A, Kabil S L, et al. Alagebrium Mitigates Metabolic Insults in High Carbohydrate and High Fat Diet Fed Wistar Rats[J]. Pharmaceutical Sciences, 2020, 26(1): 13-24. IF:1.24
 25. Dewi L, Lestari L A, Astiningrum A N, et al. The Alleviation Effect of Combination of Tempeh and Red Ginger Flour towards Insulin Sensitivity in High-Fat Diet Rats[J]. Journal of Food and Nutrition Research, 2020, 8(1): 21-25. IF:0.756
 26. USLU H, USLU G A, ?ZEN H, et al. Effects of different doses of *Prunus laurocerasus* L. leaf extract on oxidative stress, hyperglycaemia and hyperlipidaemia induced by type I diabetes[J]. 2018.
 27. Olakanmi Bodun O, Olorundare Olufunke E, Afolabi Olanrewaju O, et al. Assessment of the Effects of Crude Methanolic Extracts (Leaf and Twig) of *Loranthus micranthus* on Streptozotocin Induced Diabetic Rats[J]. Journal of Diabetes and Islet Biology, 2020, 10: 2641-8975.
 28. Singh P, Garg R, Goand U K, et al. Combination of Pancreastatin inhibitor PSTi8 with metformin inhibits Fetuin-A in type 2 diabetic mice[J]. Heliyon, 2020, 6(10): e05133.
 29. Susilowati R, Setiawan A M. *Cinnamomum burmannii* (Nees & T. Nees) Blume and *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr. extract combination ameliorate lipid profile and heart oxidative stress in hyperlipidemic mice[J]. Veterinary World, 2020, 13(7): 1404.