

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：E-BC-F089

产品规格：96T

检测仪器：荧光酶标仪、流式细胞仪、荧光显微镜

Elabscience®胆固醇摄取荧光法试剂盒

Cholesterol Uptake Fluorometric 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细胞摄取胆固醇(Cholesterol)的能力。

检测原理

胆固醇(Cholesterol)是哺乳动物中主要的甾体类化合物，在基本的细胞生命活动中起到重要作用。适量摄入胆固醇能为脂质体的氧化稳定性、物理稳定性等提供良好保障，同时对心血管疾病有预防效果，但过多摄入胆固醇具有引起高脂血症、肿瘤等疾病的风险。因此研究细胞摄取胆固醇的能力具有重要的研究意义。

本试剂盒可通过便捷的荧光法检测细胞摄取胆固醇的能力。本试剂盒中的胆固醇底物可以通过细胞膜上的低密度脂蛋白受体介导内吞进入细胞内，通过荧光显微镜、荧光酶标仪、流式细胞仪等仪器检测荧光强度即可检测细胞摄取胆固醇的能力。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	40 mL×2 瓶	-20°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	探针 (Probe)	0.48 mL×1 支	-20°C 避光 保存 6 个月
	96 孔黑色酶标板	1 板	
	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。

试剂二开盖使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：荧光酶标仪、流式细胞仪、荧光显微镜、恒温箱

试剂：完全培养基

试剂准备

各试剂平衡至25℃，试剂二可分装后-20℃避光保存1个月，避免反复冻融。

操作步骤

检测仪器部分参数设置	
荧光酶标仪	Ex/Em = 485 nm/535 nm
流式细胞仪	Ex=: 488 nm 或 FITC 滤光片
荧光显微镜	共聚焦显微镜: Ex/Em = 485 nm/535 nm 普通荧光显微镜: GFP 或 FITC 滤光片

悬浮细胞

- ① 制备细胞悬液，设置空白管和测定管，每管细胞个数不低于 1×10^5 个，空白管和测定管的细胞数相同。
- ② 空白管：弃去上清后，加入 0.5 mL 完全培养基重悬细胞。
测定管：弃去上清后，加入 0.496 mL 完全培养基和 0.004 mL 试剂二重悬细胞。
- ③ 37℃ 孵育细胞 1 h， $500 \times g$ 离心 5 min，弃上清。
- ④ 向③中加入 0.5 mL 试剂一重悬细胞。
- ⑤ **荧光酶标仪检测**：在黑色荧光酶标板中每孔加入 0.2 mL 的细胞悬液，于激发波长 485 nm，发射波长 535 nm 测定各孔荧光值。用测定孔荧光值减去空白荧光值差值大小来判断细胞的胆固醇摄取能力。
流式细胞仪检测：推荐上样量为 4×10^5 个细胞，流式细胞仪设置激发波长 488 nm，FITC 滤光片进行检测。
荧光显微镜检测：取 0.01~0.02 mL 细胞悬液，滴加在载玻片上，轻轻盖上盖玻片，使用荧光显微镜观察并拍照。共聚焦显微镜: Ex: 488 nm, Em: 500-550 nm, 普通荧光显微镜选择 GFP 或 FITC 滤光片。

贴壁细胞

- ① 将细胞接种至板孔或培养皿中，每孔细胞个数不低于 1×10^5 个。
- ② 空白孔：弃去上清，加入 0.5 mL 完全培养基，37 °C、5% CO₂ 培养箱内培养 1 h。

测定孔：弃去上清，加入 0.496 mL 完全培养基和 0.004 mL 试剂二，37 °C、5% CO₂ 培养箱内培养 1 h。

- ③ 弃去上清。
- ④ **荧光酶标仪检测**：用胰酶消化细胞后，收集细胞，试剂一清洗细胞 2 次，加入 0.25 mL 试剂一重悬细胞，在黑色荧光酶标板中每孔加入 0.2 mL 细胞悬液，荧光酶标仪设置激发波长 485 nm，发射波长 535 nm 测定各孔荧光值。用测定孔荧光值减去空白荧光值差值大小判断细胞的胆固醇摄取能力。

流式细胞仪检测：用胰酶消化细胞后，试剂一清洗细胞 2 次，加入试剂一重悬细胞，推荐上样量为 4×10^5 个细胞，流式细胞仪设置激发波长 488 nm，FITC 滤光片进行检测。

荧光显微镜检测：加入试剂一后，直接用荧光显微镜观察并拍照。共聚焦显微镜：Ex: 488 nm，Em: 500-550 nm，普通荧光显微镜选择 GFP 或 FITC 滤光片。

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。

