



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

## 游离胆固醇(FC)检测试剂盒(COD-PAP 双试剂比色法)

### 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。

源叶生物 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。

### 组成:

| 名称 \ 编号                                  |               | R24145<br>100T | Storage |
|--|---------------|----------------|---------|
| 试剂(A):<br>Good's 溶液                      | Good's Buffer | 2×25ml         | 4℃      |
|  | 显色剂           |                |         |
|  | 活性剂、稳定剂       |                |         |
| 试剂(B):<br>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。 |               |                |         |



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

|                           |     |         |
|---------------------------|-----|---------|
| 试剂(C): FC 标准(5mmol/L)     | 1ml | -20℃ 避光 |
| 试剂(D): ddH <sub>2</sub> 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
- 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 200~300 $\mu$ 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



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

| 酶标仪、全自动生化分析仪 FC 测定 |     |     |     |
|--------------------|-----|-----|-----|
| 加入物(μl)            | 空白孔 | 标准孔 | 测定孔 |
| ddH <sub>2</sub> O | 3   | —   | —   |
| FC 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 <sub>2</sub> O            | 0.01 | —    | —    |
| FC 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 <sub>2</sub> O    | 0.02 | —    | —    |
| FC 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  $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{测定}}$ 。

### 机器参数:

|         |           |
|---------|-----------|
| 主波长/次波长 | 500/600nm |
|---------|-----------|



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

|      |        |
|------|--------|
| 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):

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

血清、血浆等液体样本(全自动生化分析仪):

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

组织样本(空白调零):

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

组织样本(全自动生化分析仪):

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

细胞样本(空白调零):

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

细胞样本(全自动生化分析仪):

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

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)                 |



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

|       |   |
|-------|---|
| 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 $\mu$ mol/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。