

邻苯二甲醛试剂说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

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，分子式 $C_{27}H_{46}O$ ，分子量为 3860.65，胆固醇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。

邻苯二甲醛试剂属于总胆固醇检测(邻苯二甲醛比色法)的核心成分之一，检测原理是胆固醇及其脂在强酸存在下与邻苯二甲醛反应，产生紫红色化合物，该化合物在 550nm 波长处有最大吸收峰，分光光度计在 550nm 处进行比色测定，胆固醇含量 4mg/ml 之内与吸光度呈良好线性关系，该试剂用于人或动物的血清、血浆、脑脊液、细胞、组织等样本中的总胆固醇含量定量测定，该检测优点是：1、操作简便；2、灵敏；3、稳定；4、无需将胆固醇单独抽提出来或去除样品中的蛋白质。该试剂仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

名称	规格	保存条件
邻苯二甲醛试剂	100ml	4℃避光
试剂(A):邻苯二甲醛粉剂	100ml	4℃避光
试剂(B):邻苯二甲醛稀释液	100ml	RT
使用说明书		1份
有效期		1年

自备材料：

- 1、蒸馏水
- 2、生理盐水或 PBS
- 3、试管或离心管
- 4、浓硫酸
- 5、分光光度计

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>10⁶ 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 μ IPBS 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，待用。亦可用 1~2%TritonX-100 冰浴 30~60min，制备好的裂解液不可离心，待用。

③组织样本：准确称取适量组织样本，按质量(g)：生理盐水(ml)=1：4 的比例，加入生理盐水，冰浴条件下手动或机械匀浆。2500~3000g 离心 10min，取上清待用。

2、配制胆固醇标准工作液。

3、配制邻苯二甲醛试剂：取 100mg 邻苯二甲醛粉剂准确加入邻苯二甲醛稀释液 100ml，充分混匀，即为邻苯二甲醛试剂或邻苯二甲醛工作液。4℃避光保存，2 周有效。

4、配制强酸工作液：取适量的 TCAssayBuffer 和浓硫酸等量混合，即为强酸工作液。注意：本试剂盒不提供 TCAssayBuffer 和浓硫酸，需用户自备。二者混合时一定要小心操作，以免误伤自己，配制好的强酸工作液工作液中的硫酸含量应准确，否则有可能影响显色效果。5、胆固醇加样：按照下表设置空白管、标准管、测定管，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡。

加入物(ml)	空白管	标准管	测定管
蒸馏水	0.006	—	—
系列胆固醇标准工作液	—	0.06	—
待测血清或其他样	—	—	0.006
TCAssayBuffer	0.24	0.24	0.24
邻苯二甲醛工作液	0.12	0.12	0.12
强酸工作液	2.4	2.4	2.4

注意：TCAssayBuffer 系的总胆固醇(TC)检测试剂盒(邻苯二甲醛比色法)TC1221 的成分之一，常与其他试剂配套使用。

6、胆固醇测定：充分混匀,静置 10min，1cm 比色杯，以分光光度计测定 550m 吸光度，以空白管调零，读取标准管、测定的吸光度。

计算：以吸光度为纵坐标，以胆固醇浓度为横坐标，作标准曲线，对照标准曲线即知待测样本的浓度。

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、本法可直接用于检测脑脊液中的 TC 含量，也可直接检测尿液中的 TC 含量。
- 3、待测样本如不能及时测定，应置于 2~8℃ 保存，3 天内稳定。
- 4、如果样本 TC 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。
- 5、TCAssayBuffer 试剂可咨询 TC1221 采购。