

总胆固醇(TC)检测试剂盒(邻苯二甲醛比色法)

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。

总胆固醇(TC)检测试剂盒(邻苯二甲醛比色法)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，胆固醇浓度在 4mg/ml 之内与吸光度呈良好线性关系；本试剂盒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，其优点是：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。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

名称 \ 编号	BN27517 60T	Storage
试剂(A): 胆固醇标准(1mg/ml)	1ml	4°C 避光
试剂(B): TC Assay Buffer	50ml	RT
试剂(C): 邻苯二甲醛粉剂	2×10mg	4°C 避光
试剂(D): 邻苯二甲醛稀释液	30ml	RT
使用说明书	1 份	

自备材料：

- 1、蒸馏水、冰乙酸、浓硫酸、生理盐水或 PBS
- 2、试管或离心管、分光光度计、比色皿

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 μ 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=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：用胆固醇标准(1mg/ml)和 TC Assay Buffer 按下表依次稀释胆固醇标准工作液。

加入试剂(ml)/管号	1	2	3	4	5	6
胆固醇标准(1mg/ml)	0.01	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1
TC Assay Buffer	0.39	0.38	0.36	0.34	0.32	0.3
胆固醇含量(μg)	10	20	40	60	80	100
样品中总胆固醇浓度(mg/100ml)	40	80	160	240	320	400

- 3、配制邻苯二甲醛工作液：取 1 瓶(10mg)邻苯二甲醛粉剂加入邻苯二甲醛稀释液 10ml，充分混匀，即为邻苯二甲醛工作液；4℃避光保存，2 周有效。

- 4、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。

加入试剂(ml)	空白管	标准管	测定管
TC Assay Buffer	0.4	-	0.375
系列胆固醇标准工作液(1~6 号)	-	0.4	-
待测血清或其他样本	-	-	0.025
邻苯二甲醛工作液	0.15	0.15	0.15
冰乙酸	1.35	1.35	1.35
浓硫酸	1	1	1

- 5、胆固醇测定：充分混匀，静置 10min，1cm 比色杯，以分光光度计测定 550nm 吸光度，以空白管调零，读取标准管和各待测管的吸光度。

计算：以系列胆固醇浓度(0~6 号)为横坐标，以对应的吸光度为纵坐标，作标准曲线，以测定管的吸光度参照标准曲线，求出待测样本的浓度。

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、TC Assay Buffer 在温度较低时，易结晶，可置于温水中助溶后使用。
- 3、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。
- 4、待测样本如不能及时测定，应置于 2~8℃保存，3 天内稳定。
- 5、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。

- 6、关于“样品中总胆固醇浓度(mg/100ml)”的解释：胆固醇在水中的溶解度极低，可溶解在乙酸溶液中(如试剂 B)。因胆固醇标准的稀释都用试剂 B 来处理的，因此相当于每一个标准管中都含有 0.375ml 的试剂 B 和一定质量的标准品；另外根据实验方案中需要加入 0.025ml 样品，因此可以假设标准和样品中的胆固醇都溶解于这 0.025ml 试剂 B 中。所以(例)标准管 1 号“样品中总胆固醇浓度(mg/100ml)”即“100ml 样品中总胆固醇含量(mg)”为 $0.01\text{ml} \times 1\text{mg/ml} / 0.025\text{ml} \times 100\text{ml} = 40\text{mg}$ ，也即样品中总胆固醇浓度 40mg/100ml。
- 7、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 8、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期：6 个月有效；常温运输，按要求保存。