

## 总胆固醇(TC)检测试剂盒(邻苯二甲醛比色法)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<sub>27</sub>H<sub>46</sub>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，胆固醇含量在 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	规格	保存条件
总胆固醇(TC)检测试剂盒(邻苯二甲醛比色法)	60T	4℃避光
试剂(A):胆固醇标准(1mg/ml)	1ml	4℃避光
试剂(B):TCAssayBuffer	100ml	RT
试剂(C):邻苯二甲醛粉剂	2×10mg	4℃避光
试剂(D):邻苯二甲醛稀释液	30ml	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>10<sup>6</sup> 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 μl 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%TritonX-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：按胆固醇标准(1mg/ml)：TCAssayBuffer=1：9 的比例准确混合，即为胆固醇标准工作液(0.1mg/ml)，然后按下表依次稀释胆固醇标准工作液。

加入试剂(ml)/管号	0	1	2	3	4
胆固醇标准工作液(0.1mg/ml)	0	0.06	0.12	0.15	0.24
TCAssayBuffer	0.24	0.18	0.12	0.06	0
总胆固醇浓度(mg/ml)	0	0.06	0.12	0.18	0.24

3、配制邻苯二甲醛工作液：取 1 瓶(10mg)邻苯二甲醛粉剂的准确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、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：本试剂盒不提供浓硫酸，需用户自备，二者混合时一定小心操作，以免误伤自己，配制好的强酸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。

加入试剂(ml)	空白管	标准管	测定管
蒸馏水	0.006	0.006	—
系列胆固醇标准工作液(0~4 号)	—	0.24	—
待测血清或其他样本	—	—	0.006
TCAssayBuffer	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

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 550nm 吸光度，以

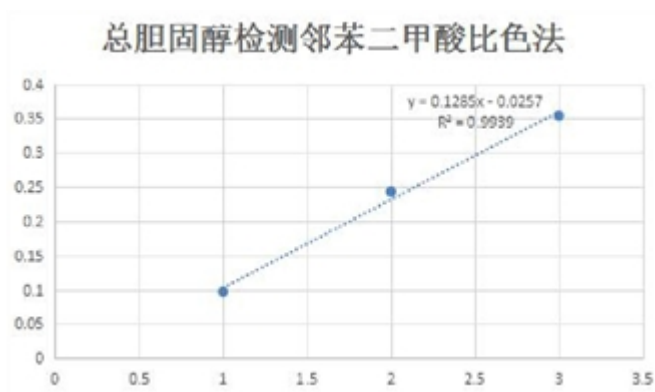
空白管调零，读取标准管和各待测管的吸光度。

**计算：**以系列胆固醇浓度(0~4 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、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。

**附录：**参考标准曲线范围：胆固醇标准在 0.06~0.3mg/ml 时，通过分光光度计测定其吸光度多在 0.05~0.4 之间，测定胆固醇标准在 0.06、0.12、0.18、0.24、时吸光度，据此作出其标准曲线如下：



**注意：**由于检测仪器和操作手法等条件的不同，参考值范围会有波动，该值仅供参考，对于要求精确计算 TC 含量的，可以采用标准曲线进行多点测定；根据测定经验显示标准品浓度在 0.05mg/ml 以下，标准品浓度在 0.24mg/ml 以上，标准曲线会有偏差。我们在测量中发现标准品在 0.24mg/ml 以上时，所测吸光度不准确，所以该附录舍弃 0.24mg/ml 所测吸光度。

