

邻苯二甲醛试剂

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,胆固醇含量在 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。

组成:

名称	编号	Storage
	R23238 100ml	
试剂(A): 邻苯二甲醛粉剂	100mg	4℃ 避光
试剂(B): 邻苯二甲醛稀释液	100ml	RT
说明书	一份	

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 $>10^6$ 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 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, 待用。亦可用 1~2% Triton X-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 TC Assay Buffer 和浓硫酸等量混合, 即为强酸工作液。注意: 本试剂盒不提供 TC Assay Buffer 和浓硫酸, 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。



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
邮箱: shyysw@sina.com

加入试剂(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	-	0.006	-
待测血清或其他样本	-	-	0.006
TC Assay Buffer	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: TC Assay Buffer 是总胆固醇(TC)检测试剂盒(邻苯二甲醛比色法)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 550nm 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。

有效期: 12 个月有效; 室温运输, 4℃ 保存。