

# $\beta$ -羟基丁酸（ $\beta$ -HB）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1882

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/96T

检测范围：0.0313mM-2mM 灵敏度：0.0313mM

适用样本：组织、细胞、细菌、血清、血浆等液体样本

## 产品简介

$\beta$ -羟基丁酸( $\beta$ -HB;3-羟基丁酸)是酮体(或含有酮基的水溶性分子)的一种,主要在肝脏中由脂肪酸氧化产生,并输出到外周组织,作为能量来源。脂肪酸在肝内正常分解代谢后所产生的酮体,分为乙酰乙酸, $\beta$ -羟基丁酸和丙酮。这三类物质互相转换,性质大致相同,但代谢途径却不一样。 $\beta$ -HB和乙酰乙酸将能量从肝脏输送到其他组织。 $\beta$ -羟基丁酸占酮体总量的78%,主要存在于血液中。乙酰乙酸占酮体总量的20%,可以由尿液排出,也可转变为丙酮呼出。丙酮占酮体总量的2%,容易挥发,可通过呼吸尿液等排出体外。 $\beta$ -HB可在食物摄入量少、低碳水化合物饮食、高脂肪饮食、饥饿和长期剧烈运动期间产生。 $\beta$ -羟基丁酸的测定在糖尿病酮症的诊断、治疗监测中比乙酰乙酸测定更灵敏,更可靠,同样在糖尿病控制的预告中也非常有价值。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法,用于分析各种生物样品中 $\beta$ -HB含量。其原理是 $\beta$ -HB被 $\beta$ -羟丁酸脱氢酶( $\beta$ -HBDH)氧化,产生乙酰乙酸,伴随这个反应过程, $\text{NAD}^+$ 被还原为NADH,NADH将WST-8还原生成橙黄色formazan(甲臌),在450nm左右检测有最大吸收峰。通过测定450nm下吸光度变化来计算 $\beta$ -HB含量。

## 产品内容

| 试剂盒组分           | 规格         |            | 储存条件   |
|-----------------|------------|------------|--------|
|                 | 48T        | 96T        |        |
| 反应缓冲液           | 60mL       | 120mL      | 4℃     |
| 试剂一             | 30 $\mu$ L | 60 $\mu$ L | -20℃   |
| 试剂二             | 0.5mL      | 1mL        | -20℃   |
| 试剂三             | 0.75mL     | 1.5mL      | 4℃避光保存 |
| $\beta$ -HB 标准品 | 粉剂×1 支     | 粉剂×1 支     | 4℃     |

## 自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计(能测450nm处的吸光度)

恒温箱、制冰机、低温离心机

96孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

去离子水

匀浆器(如果是组织样本)

## 试剂准备

**注意：各组分(小管试剂)开盖前,请先低速离心。**

反应缓冲液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂一：使用时，用反应缓冲液进行1:20稀释，整个实验过程中，冰上避光放置。现用现配，用多少配多少；保存于-20℃。

试剂二：即用型；整个实验过程中，冰上放置；分装保存于-20℃。

试剂三：即用型；整个实验过程中，冰上避光放置；4℃，避光保存。

## 产品说明书

工作液：每孔准备 85 $\mu$ L 工作液，现配现用：吸取 57 $\mu$ L 反应缓冲液，8 $\mu$ L 试剂二，10 $\mu$ L 试剂三，和 10  $\mu$ L 稀释后的试剂一混合均匀。

$\beta$ -HB 标准品：含 10mg  $\beta$ -HB，临用前加 0.793mL 反应缓冲液得 100mM 标准品，分装保存于-20 $^{\circ}$ C。取 100mM 标准品用反应缓冲液 1:50 稀释，建议取 10  $\mu$ L 100mM 标准品，加 490  $\mu$ L 反应缓冲液稀释至 2mM，混合均匀。标准曲线设置：按下表所示，用反应缓冲液将 2mM 标准品稀释为 2、1、0.5、0.25、0.125、0.0625、0.0313 mM 的标准溶液。

|        | 标准品体积 ( $\mu$ L)      | 反应缓冲液体积 ( $\mu$ L) | 标准品浓度 (mM) |
|--------|-----------------------|--------------------|------------|
| Std. 1 | 400 $\mu$ L 2mM       | 0                  | 2          |
| Std. 2 | 200 $\mu$ L of Std. 1 | 200                | 1          |
| Std. 3 | 200 $\mu$ L of Std. 2 | 200                | 0.5        |
| Std. 4 | 200 $\mu$ L of Std. 3 | 200                | 0.25       |
| Std. 5 | 200 $\mu$ L of Std. 4 | 200                | 0.125      |
| Std. 6 | 200 $\mu$ L of Std. 5 | 200                | 0.0625     |
| Std. 7 | 200 $\mu$ L of Std. 6 | 200                | 0.0313     |

### 样本制备

组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 反应缓冲液，冰浴匀浆，12,000g，4 $^{\circ}$ C 离心 10min，取上清液，置冰上待测。

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞或细菌，离心后弃上清，加入 1mL 反应缓冲液，冰浴超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 12,000 g，4 $^{\circ}$ C 离心 10min，取上清液，置冰上待测。

血清、血浆等液体样本：可直接用来检测，或者如果有必要，建议将样本根据预实验结果用反应缓冲液稀释后再进行检测。

**注意：**建议使用新鲜样本。如果不立即使用，可将样品在-80 $^{\circ}$ C 下保存 6 个月。大多数样本含有内源性  $\beta$ -羟丁酸脱氢酶（ $\beta$ -HBDH）可降解  $\beta$ -HB，制备好的样本应尽快检测，或通过 10kDa MW 离心式过滤器（超滤管）过滤，取滤液，以去除所有蛋白质，然后-80 $^{\circ}$ C 保存。

### 实验步骤

- 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 450nm，可见光分光光度计去离子水调零。
- 操作表（下述操作在 96 孔板或微量玻璃比色皿中操作）：

| 试剂 ( $\mu$ L) | 空白孔 | 标准孔 | 测定孔 | 对照孔 |
|---------------|-----|-----|-----|-----|
| 样本            | 0   | 0   | 20  | 20  |
| 标准品           | 0   | 20  | 0   | 0   |
| 反应缓冲液         | 20  | 0   | 0   | 0   |
| 工作液           | 80  | 80  | 80  | 0   |
| 反应缓冲液         | 0   | 0   | 0   | 80  |

3. 混匀后，37 $^{\circ}$ C 避光孵育 30min，测定 450nm 处吸光度，空白孔记为  $A_{空}$ ，标准孔记为  $A_{标}$ ，测定孔记为  $A_{测}$ ，对照孔记为  $A_{对}$ 。计算  $\Delta A_{测} = A_{测} - A_{对}$ ， $\Delta A_{标} = A_{标} - A_{空}$ （空白和标准曲线只需做 1 次）。

**注意：**实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果  $\Delta A_{测}$  小于 0.001 可适当加大样本量。如果  $\Delta A_{测}$  大于 2.0，样本可用反应缓冲液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

### 结果计算

#### 1. 标准曲线的绘制

以标准溶液浓度为 y 轴， $\Delta A_{标}$  为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。

## 产品说明书

### 2. 含量的计算

将样本的  $\Delta A_{\text{测}}$  代入方程得到  $y$  值 ( $1\text{mM}=1\ \mu\text{mol/mL}$ )。

(1) 按样本鲜重计算

$$\beta\text{-HB 含量} (\mu\text{mol/g 鲜重}) = y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div W \times n$$

(2) 按样本体积计算

$$\beta\text{-HB 含量} (\mu\text{mol/mL}) = y \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \times n = y \times n$$

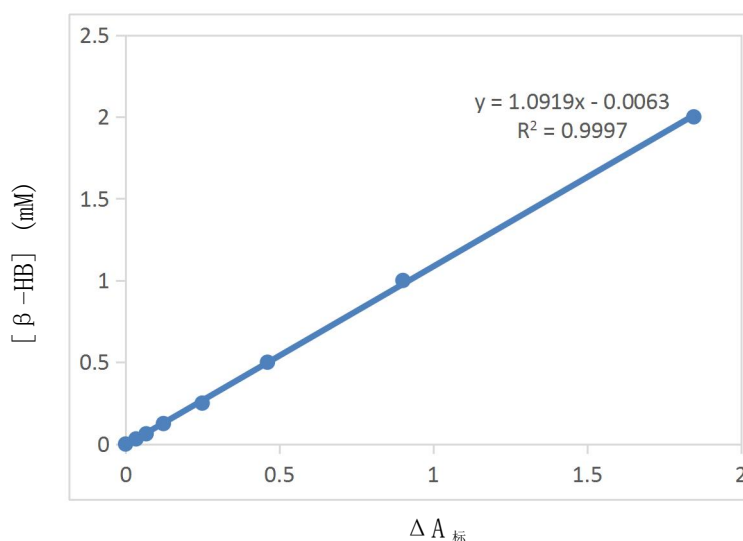
(3) 按细胞数目计算

$$\beta\text{-HB 含量} (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cells}) = y \times V_{\text{样}} \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div 500 \times n = 0.002 \times y \times n$$

$V_{\text{样}}$ : 加入样本体积, 0.05mL;  $W$ : 样本质量, g;  $V_{\text{样总}}$ : 加入反应缓冲液体积, 1mL;  $n$ : 样本稀释倍数;  $C_{\text{pr}}$ : 样本蛋白浓度, mg/mL; 500: 细胞数量, 500 万。

### 结果展示

典型标准曲线-以下数据和曲线仅供参考, 实验者需根据自己的实验建立标准曲线。



### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验, 尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究, 如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途, 我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用, 并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用; 否则, 可能导致结果异常。
5. 勤换吸头, 避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品:

- PMK1137 游离脂肪酸 (FFA) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1138 脂肪酶 (LPS) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1153 肉毒碱棕榈酰转移酶 (CPT1) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1115 乳酸 (LA) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1001 乳酸脱氢酶 (LDH) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1116 丙酮酸 (PA) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1110 丙酮酸脱氢酶 (PDH) 检测试剂盒 (微量法)



更多产品详情了解, 请关注公众号: