

β -羟基丁酸 (β -HB) 检测试剂盒 (微量法)

货号: PMK1882BKM

保存: -20°C 避光保存 6 个月

规格: 48T/48S 96T/96S

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

β -羟基丁酸(β -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, β -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。 β -HB和乙酰乙酸将能量从肝脏输送到其他组织。 β -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。 β -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。 β -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 β -HB含量。其原理是 β -HB被 β -羟丁酸脱氢酶(β -HBDH)氧化,产生乙酰乙酸,伴随这个反应过程, NAD^{+} 被还原为NADH,NADH将WST-8还原生成橙黄色formazan(甲臜),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 β -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°C
试剂一	30 μL	60 μL	-20°C
试剂二	0.5mL	1mL	-20°C
试剂三	0.75mL	1.5mL	4°C 避光保存
β -HB 标准品	粉剂 $\times$ 1支	粉剂 $\times$ 1支	4°C

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°C 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°C 。

试剂二: 即用型; 整个实验过程中, 冰上放置; 分装保存于 -20°C 。

试剂三: 即用型; 整个实验过程中, 冰上避光放置; 4°C , 避光保存。

产品说明书

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

β -HB 标准品：含 10mg β -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 μ L 100mM 标准品，加 490 μ 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 (μ L)	反应缓冲液体积 (μ L)	标准品浓度 (mM)
Std. 1	400 μ L 2mM	0	2
Std. 2	200 μ L of Std. 1	200	1
Std. 3	200 μ L of Std. 2	200	0.5
Std. 4	200 μ L of Std. 3	200	0.25
Std. 5	200 μ L of Std. 4	200	0.125
Std. 6	200 μ L of Std. 5	200	0.0625
Std. 7	200 μ 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 β -羟丁酸脱氢酶（ β -HBDH）可降解 β -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 (μ 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 $A_{\text{空}}$ ，标准孔记为 $A_{\text{标}}$ ，测定孔记为 $A_{\text{测}}$ ，对照孔记为 $A_{\text{对}}$ 。计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测}} - A_{\text{对}}$ ， $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标}} - A_{\text{空}}$ （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 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.001 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 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

- 标准曲线的绘制

以标准溶液浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标}}$ 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

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

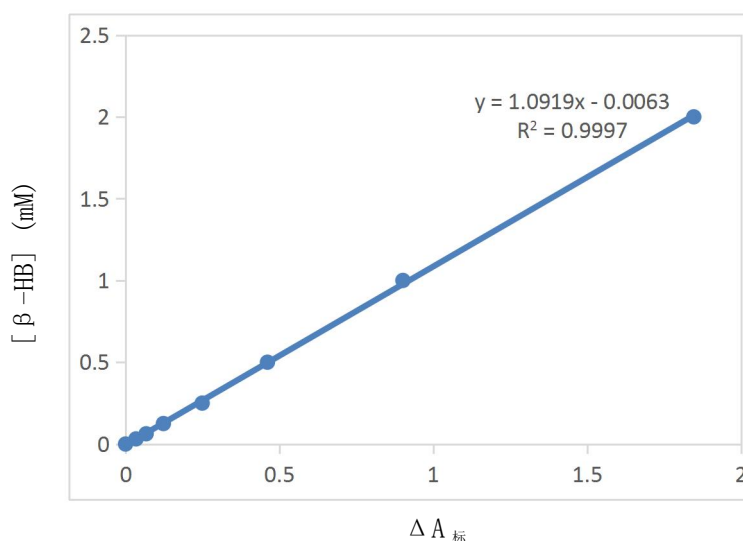
(3) 按细胞数目计算

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

$V_{\text{样}}$: 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_{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: