

## 同型半胱氨酸（HCY）（酶循环法）检测试剂盒说明书

（货号：ADS-W-D013-48 微板法 48 样）

### 一、产品简介：

氧化型同型半胱氨酸经三乙羧乙基膦（TCEP）还原形成游离型 HCY，游离型 HCY 与底物反应循环放大，同时产生腺苷。腺苷立即水解成氨和次内嘌呤，氨在谷氨酸脱氢酶的作用下，使 NADH 转换成 NAD<sup>+</sup>，通过检测反应中 NADH 于 340nm 处下降速率，进而计算出 HCY 的含量。

### 二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 8mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 2.5mL×1 支	4℃保存	
标准管	液体 0.2mL×1 支	4℃保存	浓度见标签

### 三、所需仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、离心机、蒸馏水。

### 四、同型半胱氨酸（HCY）含量检测：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

#### 1、样本制备：

##### ① 组织样本：

取约 0.1g 组织样本，加 1mL 的生理盐水研磨，粗提液全部转移到 EP 管中，12000rpm，常温离心 10min，上清液待测。

##### ② 液体样品：澄清的液体可直接检测；若浑浊则离心后取上清液检测。

#### 2、上机检测：

##### ① 酶标仪预热 30min，设置温度在 37℃，设定波长到 340nm。

##### ② 所有试剂解冻至室温，在 96 孔板中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)	标准管 (仅做一次)
样本	10		
蒸馏水		10	
标准品			10
试剂一	150	150	150
混匀，37℃孵育 5min。			
试剂二	40	40	40
混匀，37℃孵育 2min 后于 340nm 处读取吸光值 A1，接着 5min 后再读取 A2， $\Delta A = A1 - A2$ 。			

【注】：1. 若 5min 内的  $\Delta A$  值大于 0.4，须用蒸馏水对样本进行稀释，稀释倍数 D 代入计算公式。

2. 若  $\Delta A$  的值小于 0.005，可增加样本加样体积 V1（如由 10μL 增至 20μL，空白管也由 10μL 增至 20μL 蒸馏水，标准管是 10μL 标准品和 10μL 蒸馏水；其他试剂均保持不变），或者读取 A1 后，延长至 15min 后再读取 A2。则改变后的 V1 和  $\Delta A$  和 T 代入公式重新计算。

### 五、结果计算：

#### 1、按照质量计算：

$$\begin{aligned} \text{同型半胱氨酸(HCY)}(\text{nmol/g}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\Delta A_{\text{测定}} / \text{T} - \Delta A_{\text{空白}} / \text{T}) \div (\Delta A_{\text{标准}} / \text{T} - \Delta A_{\text{空}} / \text{T}) \div (\text{V1} \div \text{V} \times \text{W}) \times \text{D} \\ &= \text{C 标准} \times (\Delta A_{\text{测定}} / \text{T} - \Delta A_{\text{空白}} / \text{T}) \div (\Delta A_{\text{标准}} / \text{T} - \Delta A_{\text{空}} / \text{T}) \div \text{W} \times \text{D} \end{aligned}$$

2、按照体积计算:

$$\begin{aligned} \text{同型半胱氨酸(HCY)}(\mu\text{mol/L}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\Delta A_{\text{测定}} / \text{T} - \Delta A_{\text{空白}} / \text{T}) \div (\Delta A_{\text{标准}} / \text{T} - \Delta A_{\text{空}} / \text{T}) \div \text{V1} \times \text{D} \\ &= \text{C 标准} \times (\Delta A_{\text{测定}} / \text{T} - \Delta A_{\text{空白}} / \text{T}) \div (\Delta A_{\text{标准}} / \text{T} - \Delta A_{\text{空}} / \text{T}) \times \text{D} \end{aligned}$$

C 标准---标品浓度, 见标签;

$\Delta A / \text{T}$ ---每分钟吸光度变化率;

V1---加入样本体积, 0.01mL;

V2---加入标准品体积, 0.01mL;

V---提取液体积, 1mL;

W---质量, g;

D---稀释倍数, 未稀释即为 1。