

β-羟丁酸含量（酶比色法）检测试剂盒说明书

（货号：ADS-W-D015 微板法 96 样）

一、产品简介：

β-羟丁酸在β-羟丁酸脱氢酶催化下生成乙酰乙酸。同时氧化型辅酶I被还原成还原型辅酶I即NADH，通过检测NADH在340nm处的增加量，即可计算出样本中β-羟丁酸含量。

二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉体 1 支	4°C保存	临用前甩几下使粉体落入底部，再加1.1mL蒸馏水溶解备用，用不完的试剂仍4°C保存；
试剂二	液体 18mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	液体 1 支	-20°C保存	临用前甩几下使试剂落入底部，再加1mL蒸馏水混匀，分装后于-20°C保存；
标准品	粉体 1 支	4°C保存	临用前甩几下使粉体落入底部，再加2mL蒸馏水溶解即标准品浓度为100mmol/L；再用蒸馏水稀释5倍成20mmol/L备用检测。

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、β-羟丁酸含量检测：

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 液体样品：澄清的液体样本可直接检测。
- ② 组织样本：0.1g组织（水分充足的样本建议取0.2g左右），加1mL的生理盐水或磷酸缓冲液研磨，粗提液全部转移到EP管中，12000rpm，常温离心10min，上清液待测。

2、上机检测：

- ① 酶标仪预热30min，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	标准管 (仅测一次)	空白管 (仅测一次)
样本	10		
标准品		10	
蒸馏水			10
试剂一	10	10	10
试剂二	170	170	170
混匀，37°C孵育5min后，于340nm处读取各管吸光度A1。			
试剂三	10	10	10
混匀，37°C孵育10min后，于340nm处读取各管吸光度A2。ΔA=A2-A1。			

【注】若ΔA值小于0.01，可增加样本取样量V1（如增至50μL，则试剂二相应减少，总体积不变），则改变后的V1需代入公式重新计算。

五、结果计算：

1、按照体积计算:

$$\beta\text{-羟丁酸含量}(\text{mmol/L})=(\text{C 标准}\times\text{V 标})\times(\Delta\text{A 测定}-\Delta\text{A 空白})\div(\Delta\text{A 标准}-\Delta\text{A 空白})\div\text{V1}$$
$$=20\times(\Delta\text{A 测定}-\Delta\text{A 空白})\div(\Delta\text{A 标准}-\Delta\text{A 空白})$$

2、按照组织质量计算:

$$\beta\text{-羟丁酸}(\text{mmol/g 重量})=(\text{C 标准}\times\text{V 标})\times(\Delta\text{A 测定}-\Delta\text{A 空白})\div(\Delta\text{A 标准}-\Delta\text{A 空白})\div(\text{W}\times\text{V1}\div\text{V})$$
$$=20\times(\Delta\text{A 测定}-\Delta\text{A 空白})\div(\Delta\text{A 标准}-\Delta\text{A 空白})\div\text{W}$$

3、按照蛋白浓度计算:

$$\beta\text{-羟丁酸}(\text{mmol/mg prot})=(\text{C 标准}\times\text{V 标})\times(\Delta\text{A 测定}-\Delta\text{A 空白})\div(\Delta\text{A 标准}-\Delta\text{A 空白})$$
$$\div(\text{Cpr}\times\text{V1}\div\text{V})$$
$$=20\times(\Delta\text{A 测定}-\Delta\text{A 空白})\div(\Delta\text{A 标准}-\Delta\text{A 空白})\div\text{Cpr}$$

C 标准---标品浓度, 20mmol/L;

V 标---标准品取样体积, 0.01mL;

V1---取样体积, 0.01mL;

V---加入提取液体积, 1mL;

W---样本鲜重, g;

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL; 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。