

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K854-M

产品规格: 48T(44 samples)/96T(92 samples)

检测仪器: 酶标仪(330-350 nm)

Elabscience®同型半胱氨酸(Hcy)比色法测试盒

Homocysteine (Hcy) Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: biochemical@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清(浆)和尿液中的同型半胱氨酸(Hcy)的含量。

检测原理

氧化型 Hcy 被转化成游离 Hcy, 游离 Hcy 在酶催化循环反应中可以将 NADH 转变成 NAD⁺, 造成 340 nm 处 OD 值下降, 通过下降速率计算样品中 Hcy 含量。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 A (Buffer Solution A)	10 mL×1 瓶	20 mL×1 瓶	-20°C 避光 保存 3 个月
试剂二 (Reagent 2)	缓冲液 B (Buffer Solution B)	6 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	-20°C 保存 3 个月
试剂三 (Reagent 3)	底物 (Substrate)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20°C 避光 保存 3 个月
试剂四 (Reagent 4)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	粉剂×2 支	粉剂×4 支	-20°C 避光 保存 3 个月
试剂五 (Reagent 5)	28 μmol/L 标准品 (28 μmol/L Standard)	0.5 mL×1 支	1 mL×1 支	-20°C 避光 保存 3 个月
	96 孔紫外酶标板	1 板		
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明: 试剂严格按上表中的保存条件保存, 不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂, 使用前请先离心, 以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(330-350 nm, 最佳检测波长 340 nm)

试剂准备

① 检测前, 所有试剂平衡至室温。

② 试剂三工作液的配制:

取一支试剂三加入1 mL试剂一混匀, 配好的试剂三工作液分装后-20°C避光保存5天, 禁止反复冻融。

③ 试剂四工作液的配制:

取一支试剂四加入200 μ L双蒸水溶解, 配好的试剂四工作液2-8°C条件下可避光保存1天。

④ 反应工作液A的配制:

按照试剂一: 试剂三工作液=15: 1的体积比混匀, 配好的反应工作液2-8°C条件下避光保存, 1天内使用有效。

⑤ 反应工作液B的配制:

按照试剂二: 试剂四工作液=11: 1的体积比混匀, 配好的反应工作液2-8°C条件下避光保存, 1天内使用有效。

样本准备

① 样本处理

血清(浆)及尿液样本直接测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验结果，结合本试剂盒最佳检测范围1.95-100.0 $\mu\text{mol/L}$ ，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	人尿液	不稀释

注：稀释液为生理盐水(0.9%NaCl)。

实验关键点

反应过程消耗底物，吸光度逐渐下降，需要按照操作步骤严格控制孵育时间和测定时间。

操作步骤

- ① 标准孔：取 20 μL 试剂五加入标准孔中。
空白孔：取 20 μL 双蒸水加入空白孔中。
测定孔：取 20 μL 待测样本加入相应的测定孔中。
- ② 向步骤①中各孔加入 120 μL 反应工作液 A，振板 3 s 混匀，37°C 孵育 5 min；
- ③ 向骤②中各孔加入 80 μL 反应工作液 B，振板 3 s 混匀，37°C 孵育 2 min。
- ④ 酶标仪波长 340 nm 下测定 OD 值 A_1 ，37°C 孵育 10 min 后测定 OD 值 A_2 ，计算 $\Delta A = A_1 - A_2$ 。

操作表

	标准孔	空白孔	测定孔
试剂五(μL)	20	--	--
双蒸水(μL)	--	20	--
待测样本(μL)	--	--	20
反应工作液 A(μL)	120	120	120
振板 3 s 混匀，37°C 孵育 5 min。			
反应工作液 B(μL)	80	80	80
振板 3 s 混匀，37°C 孵育 2 min，酶标仪波长 340 nm 下测定 OD 值 A_1 ，37°C 孵育 10 min 后测定 OD 值 A_2 ，计算 $\Delta A = A_1 - A_2$ 。			

结果计算

同型半胱氨酸(Hcy)含量计算公式:

$$\text{Hcy 含量} = \frac{\Delta A_{\text{测}} - \Delta A_{\text{空}}}{\Delta A_{\text{标}} - \Delta A_{\text{空}}} \times 28^* \times f$$

($\mu\text{mol/L}$)

注解:

$\Delta A_{\text{测}}$: 测定孔变化 OD 值($A_1 - A_2$)

$\Delta A_{\text{标}}$: 标准孔变化 OD 值($A_1 - A_2$)

$\Delta A_{\text{空}}$: 空白孔变化 OD 值($A_1 - A_2$)

28*: 标准品的浓度, 28 $\mu\text{mol/L}$

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	1.95-100.0 $\mu\text{mol/L}$	平均批间差	9.0 %
灵敏度	1.95 $\mu\text{mol/L}$	平均批内差	1.7 %
平均回收率	104 %		

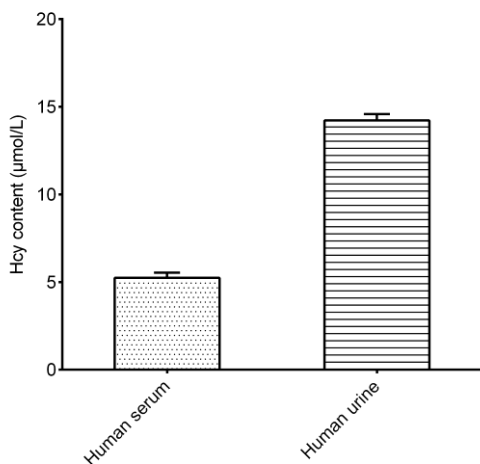
附录2 实例分析

例如检测人血清样本(数据仅供参考):

取人血清样本20 μL , 按操作表操作, 结果如下: 测定孔 A_1 值为1.317, A_2 值为1.219, $\Delta A_{\text{测}} = 1.317 - 1.219 = 0.098$, 空白孔 A_1 值为1.107, A_2 值为1.050, $\Delta A_{\text{空}} = 1.107 - 1.050 = 0.057$, 标准孔 A_1 值为1.044, A_2 值为0.795, $\Delta A_{\text{标}} = 1.044 - 0.795 = 0.249$, 计算结果为:

$$\text{Hcy 含量} = \frac{0.098 - 0.057}{0.249 - 0.057} \times 28 = 5.98 \mu\text{mol/L}$$

按说明书操作, 测定人血清(加样量20 μL)和人尿液(加样量20 μL)中的Hcy含量(如下图):



声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。