（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-K776-M

产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器：酶标仪(415-425nm)

Elabscience®硒离子比色法测试盒

Selenium 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动物组织以及细胞样本中硒离子含量。

检测原理

硒是人体必需的微量元素，参与人体多个代谢途径，具有延缓衰老、增强免疫力、预防多种疾病等功能。硒元素的摄取需要通过日常膳食摄入，摄入过多会造成硒中毒，导致多器官损伤，硒摄入不足也会引起多种疾病，如大骨节病等。

本试剂盒的检测原理为：在酸性条件下，硒被还原为四价硒，再与显色剂反应生成黄色络合物，在波长 420 nm 处有吸收，显色强度与样本中的四价硒含量成正比。

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)	还原试剂 (Reducing Reagent)	6 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	-20°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	显色剂 (Chromogenic Agent)	粉剂×2 支	粉剂×4 支	-20°C 避光保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	基质液 (Matrix Solution)	7 mL×1 瓶	14 mL×1 瓶	-20°C 避光保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	20 mmol/L 标准品 (20 mmol/L Standard)	1 mL×1 支	1 mL×2 支	-20°C 避光保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	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(415-425nm，最佳检测波长 420 nm)、37°C 恒温箱

耗材：10 KD 超滤管

试剂准备

① 检测前，所有试剂需平衡至25°C。

② 试剂二工作液的配制：

取一支试剂二粉剂用3 mL试剂三溶解得到试剂二工作液，未使用完的试剂二工作液可-20°C避光保存三天。

③ 反应工作液的配制：

按照试剂一：试剂二工作液=1:1混匀。例如，取1 mL试剂一与1 mL试剂二工作液混匀，按需配制，现配现用。

④ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mmol/L)	**0**	**0.5**	**1**	**2**	**4**	**8**	**12**	**16**
20 mmol/L 标准品(μL)	0	5	10	20	40	80	120	160
双蒸水(μL)	200	195	190	180	160	120	80	40

样本准备

样本处理

组织样本：按照组织样本质量(g)：双蒸水体积(mL) = 1:9的比例匀浆(如0.1 g组织样本，加入0.9 mL双蒸水)。取上清于10 KD超滤管中超滤，4°C，12000 × g，离心25 min，取下层滤管中的滤液置于冰盒上待测，1天内使用为宜。

细胞样本：取 1×10^6 个细胞加入 200 μL 双蒸水进行匀浆，离心取上清于 10 KD 超滤管中超滤，4°C，12000 × g，离心 25 min，取下层滤管中的滤液置于冰盒上待测，1 天内使用为宜。

操作步骤

① 标准孔：向标准孔中加入 60 μL 不同浓度标准品。

测定孔：向测定孔中加入 60 μL 待测样本。

② 向步骤①中的各孔中加入 200 μL 反应工作液。

③ 37°C 避光孵育 30 min，420 nm 处检测各孔 OD 值。

操作表

	标准孔	**测定孔**
不同浓度标准品(μL)	60	--
待测样本(μL)	--	60
反应工作液(μL)	200	200
37°C 避光孵育 30 min，420 nm 处检测各孔 OD 值		

结果计算

标准品拟合曲线： $y = a x + b$

组织样本中硒离子含量计算公式：

$$\text{硒离子含量 (mmol/kg wet weight)} = \frac{\Delta A - b}{a} \times V \div m \times f$$

细胞样本中硒离子含量计算公式：

$$\text{硒离子含量 (mmol/10^6)} = \frac{\Delta A - b}{a} \times V \div n \times f$$

注解：

y：标准孔 OD 值-空白孔 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x：标准品的浓度

a：标曲的斜率

b：标曲的截距

ΔA：测定孔 OD 值-空白孔 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

V：加入的双蒸水体积，L

m：样本质量，kg

n：细胞样本的个数，10^6 个

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

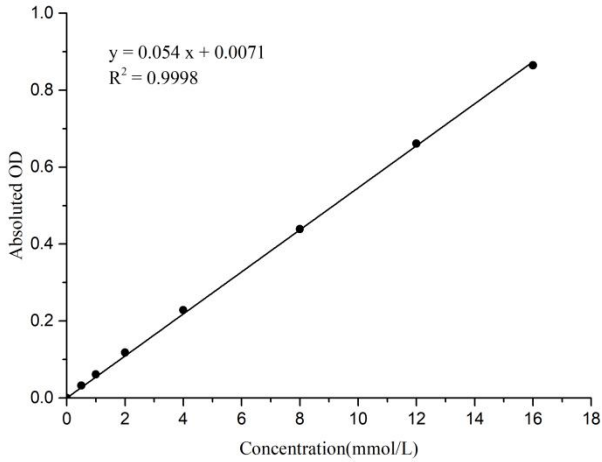
检测范围	0.06-16.00 mmol/L	批间差	0.5-0.7%
灵敏度	0.06 mmol/L	批内差	0.3-0.4%
回收率	102-106%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度的标准品加样量为60 μL，按照操作表进行操作记录OD值，结果如下：

标准品浓度 (mmol/L)	0	0.5	1	2	4	8	12	16
OD 值	0.092	0.125	0.153	0.211	0.321	0.529	0.750	0.949
	0.093	0.125	0.155	0.210	0.321	0.534	0.757	0.965
平均 OD 值	0.093	0.125	0.154	0.211	0.321	0.532	0.754	0.957
绝对 OD 值	0	0.033	0.062	0.118	0.229	0.439	0.661	0.865

② 绘制标准曲线，如下图所示：



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。