（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-K1102-M

产品规格：48T (46 samples)/96T (94 samples)

检测仪器：酶标仪(340 nm)

Elabscience®α-羟丁酸脱氢酶（α-HBDH）比色法测试盒

α-Hydroxybutyrate Dehydrogenase (α-HBDH) Activity 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）样本中α-羟丁酸脱氢酶（α-HBDH）的活力。

检测原理

α-羟丁酸脱氢酶（α-Hydroxybutyrate Dehydrogenase，α-HBDH）是乳酸脱氢酶（Lactic Dehydrogenase，LDH）同工酶 LDH 1 和 LDH 2 的总称，是心肌酶谱五项组成之一，其增高常见于心肌梗死、肝脏实质细胞病变、风湿性心肌炎、病毒性心肌炎、溶血性贫血等疾病。

α-HBDH 在还原型辅酶 I (NADH)的存在下催化α-酮丁酸还原为α-羟丁酸，同时 NADH 被氧化为 NAD^+，氧化速率与该酶活成正比，通过在 340 nm 监测 NADH 的降低速率，即可计算α-HBDH 活力。

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 (Buffer Solution)	12 mL×1 瓶	24 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	辅酶 (Coenzyme)	3 mL×1 瓶	6 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
	96 孔紫外酶标板	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(340 nm)，恒温箱

试剂：PBS (0.01 M，pH 7.4)

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至25°C。

② 反应工作液的配制：

将试剂一：试剂二按体积比= 4：1比例配制混匀，按需配制，现配现用，当天使用有效。

样本准备

① 样本处理

血清（浆）样本：直接检测。

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，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：5.97-1313.73 U/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	人血浆	不稀释
小鼠血浆	不稀释	大鼠血浆	不稀释

注：稀释液为 PBS (0.01 M，pH 7.4)。

操作步骤

① 空白孔：取 10 μL 双蒸水加入相应的板孔中。

测定孔：取 10 μL 待测样本加入相应的板孔中。

② 向步骤①中各孔加入 250 μL 反应工作液。

③ 振板 5 s，37°C 孵育 3 min，酶标仪 340 nm 处，测定各孔 OD 值为 A_1。

④ 37°C 孵育 5 min，酶标仪 340 nm 处，测定各孔 OD 值为 A_2，$\Delta A = A_1 - A_2$。

操作表

	空白孔	测定孔
双蒸水(μL)	10	--
待测样本(μL)	--	10
反应工作液(μL)	250	250
振板 5 s，37°C 孵育 3 min，340 nm 测定各孔 OD 值 A_1，37°C 孵育 5 min，340 nm 测定各孔 OD 值 A_2，$\Delta A=A_1 - A_2$		

结果计算

血清（浆）样本中α-羟丁酸脱氢酶（α-HBDH）活力计算公式：

定义：在 37°C条件下，每升样本每分钟催化底物生成 1 μmol 产物所需要的酶量为一个酶活力单位。

$$\alpha\text{-HBDH 活力 (U/L)} = (\Delta A_{测定} - \Delta A_{空白}) \div (\varepsilon \times d) \times \frac{V_{总}}{V_{样}} \div T \times f$$

$$= (\Delta A_{测定} - \Delta A_{空白}) \times 1194.3^{*} \times f$$

注解：

$\Delta A_{测定}$：测定孔 $A_1 - A_2$

$\Delta A_{空白}$：空白孔 $A_1 - A_2$

ε：NADH 在 340 nm 的摩尔消光系数，6.22×10^(-3) L • μmol^{-1} • cm^{-1}

d：96 孔板光径，0.7 cm

$V_{总}$：反应体系总体积，260 μL

$V_{样}$：加入样本体积，10 μL

T：反应时间，5 min

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	5.97-1313.73 U/L	**批间差**	2.4-7.4%
灵敏度	5.97 U/L	**批内差**	2.3-3.6%

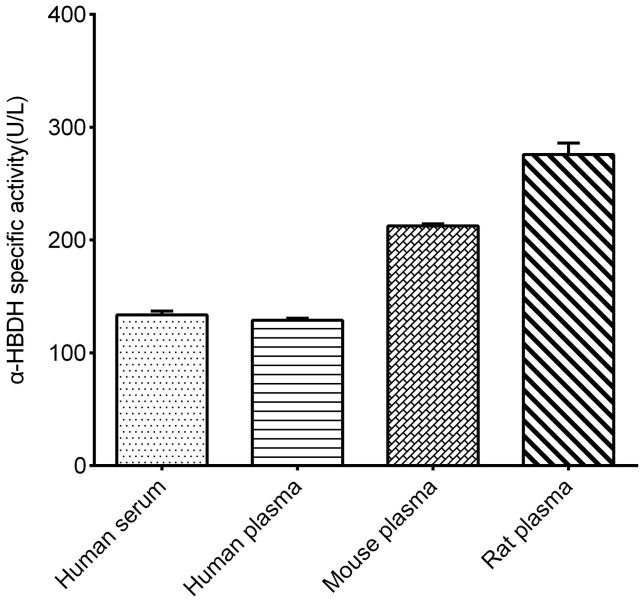
附录2 实例分析

例如检测人血清(数据仅供参考)：

取 10 μL 人血清样本，按操作表操作，结果如下：空白孔 A_1 值 1.405，空白孔 A_2 值 1.403，$\Delta A_{空白}$=1.405 - 1.403 = 0.002；测定孔 A_1 值 1.314，测定孔 A_2 值 1.200，$\Delta A_{测定}$= 1.314 - 1.200 = 0.114 计算结果为：

$$\alpha\text{-HBDH活力(U/L)} = (0.114 - 0.002) \times 1194.3 = 133.76\ \text{U/L}$$

按照说明书操作，测定人血清(加样量 10 μL)、人血浆(加样量 10 μL)、小鼠血浆(加样量 10 μL)和大鼠血浆(加样量 10 μL)中α-HBDH 的活力(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。