

(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	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，不同试剂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℃。

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 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 3 min, 酶标仪 340 nm 处, 测定各孔 OD 值为 A_1 。

④ 37 $^{\circ}\text{C}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 3 min, 340 nm 测定各孔 OD 值 A_1 , 37 $^{\circ}\text{C}$ 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。

$$\begin{aligned}\alpha\text{-HBDH 活力} &= (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\epsilon \times d) \times \frac{V_{\text{总}}}{V_{\text{样}}} \div T \times f \\ (\text{U/L}) & \\ &= (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times 1194.3^* \times f\end{aligned}$$

注解：

$\Delta A_{\text{测定}}$ ：测定孔 $A_1 - A_2$

$\Delta A_{\text{空白}}$ ：空白孔 $A_1 - A_2$

ϵ ：NADH 在 340 nm 的摩尔消光系数， $6.22 \times 10^4 \text{ L} \cdot \mu\text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

d ：96 孔板光径，0.7 cm

$V_{\text{总}}$ ：反应体系总体积，260 μL

$V_{\text{样}}$ ：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%

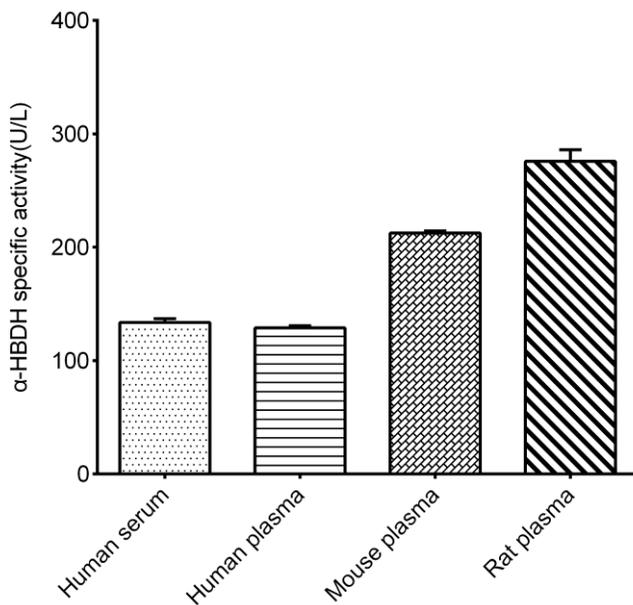
附录2 实例分析

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, $\Delta A_{\text{空白}} = 1.405 - 1.403 = 0.002$; 测定孔 A_1 值 1.314, 测定孔 A_2 值 1.200, $\Delta A_{\text{测定}} = 1.314 - 1.200 = 0.114$ 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 $\alpha\text{-HBDH}$ 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。