

(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-K785-M

产品规格: 48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器: 酶标仪(440-460 nm)

Elabscience® β -羟基丁酸(酮体)比色法测试盒
 β -Hydroxybutyrate (Ketone Body) 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、血浆、尿液以及动物组织样本中 β -羟基丁酸的含量。

检测原理

β -羟基丁酸(β -HB)分子式为 $C_4H_8O_3$ ，约占酮体总量的 75%。糖尿病酮症酸中毒患者体内生成的 NADH 增加，NADH 可促进乙酰乙酸转化成 β -HB。因此， β -羟基丁酸含量的高低可作为评判糖尿酮症的指标。 β -羟基丁酸在 β -羟基丁酸脱氢酶的催化下氧化，同时 NAD^+ 被还原生成 NADH，NADH 在递氢物质作用下使 WST-8 显橙黄色，通过测得 450 nm 处的吸光值来判断 β -羟基丁酸含量，其吸光度值与 β -羟基丁酸含量成正相关。

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)	50 mL×1 瓶	50 mL×2 瓶	2-8℃ 避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	2-8℃ 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	缓冲液 B (Buffer Solution B)	5 mL×1 瓶	10 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	显色剂 (Chromogenic Agent)	1.5 mL×1 支	1.5 mL×2 支	2-8℃ 避光 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	10 mmol/L 标准品 (10 mmol/L Standard)	0.5 mL×1 支	1 mL×1 支	2-8℃ 保存 6 个月
	96 孔酶标板	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(440-460 nm, 最佳检测波长 450 nm), 恒温箱(37 ℃), 超滤管(50 kD)

试剂准备

① 检测前, 试剂二置于冰盒待用, 其余试剂平衡至室温。

② 试剂二工作液的配制:

取一支试剂二, 用 1 mL 双蒸水溶解, 充分混匀, 置于冰盒上避光待用, 未用完部分分装后-20 ℃ 可保存一个月。

③ 试剂二反应工作液的配制:

按照试剂二工作液: 试剂三=1: 4 的体积比进行配制, 充分混匀, 置于冰盒上避光待用, 现配现用, 按需配置, 配好的工作液需当天使用完毕。

④ 试剂四工作液的配制:

按照试剂一: 试剂四=7: 1 的体积比进行配制, 充分混匀, 置于冰盒上避光待用, 现配现用, 按需配置, 配好的工作液需当天使用完毕。

⑤ 5 mmol/L 标准品的配制:

按照试剂五: 双蒸水=1: 1 的体积比进行配制, 混匀待用, 2-8 ℃ 可保存 2 天。

⑥ 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	0.2	0.5	0.8	1.0	1.2	1.5	2.0
5 mmol/L 标准品(μL)	0	8	20	32	40	48	60	80
试剂一(μL)	200	192	180	168	160	152	140	120

样本准备

① 样本处理

血清、血浆及尿液样本：直接进行超滤。若样本溶液较浑浊， $10000 \times g$ 离心 10 min，取上清液用 50 kD 超滤管以 $10000 \times g$ 离心 15 min，超滤后的样本置于冰盒待测。

组织样本：取 0.1 g 新鲜组织，加入 0.9 mL 双蒸水，匀浆， $10000 \times g$ 离心 10 min，取上清液用 50 kD 超滤管以 $10000 \times g$ 离心 15 min，超滤后的样本置于冰盒待测。

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：0.01-2.00 mmol/L，可参考下表进行稀释(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
大/小鼠血清	不稀释	大/小鼠血浆	不稀释
10%大鼠肝组织	不稀释	10%大鼠肾组织	不稀释
10%大鼠心组织	不稀释	人尿液	不稀释

注：稀释液为双蒸水。

实验关键点

- ① 试剂一、试剂四应避光保存。
- ② 试剂一和试剂三不能混用，必须按说明书进行操作。

操作步骤

- ① 标准孔：取 10 μL 不同浓度标准品，加入酶标板各标准孔中。
测定孔：取 10 μL 待测样本，加入酶标板各测定孔中。
- ② 向步骤①中标准孔和测定孔各加入 50 μL 试剂二反应工作液。
- ③ 振板 5 s, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min。
- ④ 向步骤③的各孔中加入 160 μL 试剂四工作液。
- ⑤ 振板 5 s, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min。
- ⑥ 酶标仪于波长 450 nm 测定各孔 OD 值。

操作表

	标准孔	测定孔
不同浓度标准品(μL)	10	
待测样本(μL)		10
试剂二反应工作液(μL)	50	50
振板 5 s, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min		
试剂四工作液(μL)	160	160
振板 5 s, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min, 酶标仪于波长 450 nm 测定各孔 OD 值。		

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

组织样本中的 β -羟基丁酸含量计算:

$$\beta\text{-羟基丁酸} \text{ (mmol/kg wet weight)} = \frac{\Delta A - b}{a} \div \frac{m}{V} \times f$$

血清/血浆样本中 β -羟基丁酸含量计算:

$$\beta\text{-羟基丁酸} \text{ (mmol/L)} = \frac{\Delta A - b}{a} \times f$$

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: 标准曲线斜率

b: 标准曲线截距

ΔA : 样本的绝对 OD 值(测定孔 OD 值-空白孔 OD 值)

m: 组织样本的质量 0.1 g

V: 匀浆液体积 0.9 mL

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

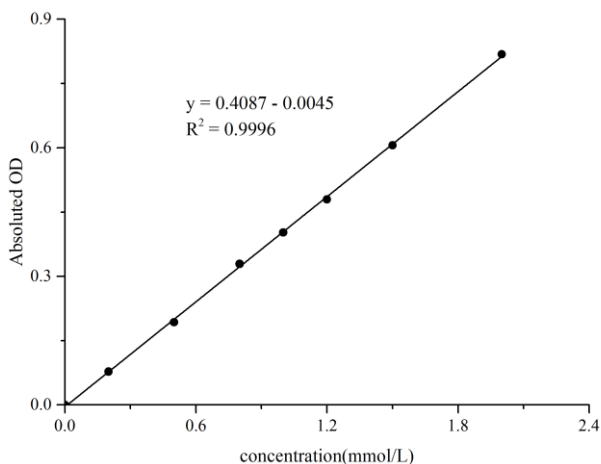
检测范围	0.01-2.00 mmol/L	平均批间差	4.0 %
灵敏度	0.01 mmol/L	平均批内差	2.0 %
平均回收率	102 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度的标准品加样量10 μ L, 按照操作步骤进行实验, 各孔OD值如下表所示:

标准品浓度 (mmol/L)	0	0.2	0.5	0.8	1.0	1.2	1.5	2.0
OD 值	0.061	0.140	0.255	0.390	0.469	0.546	0.667	0.877
	0.061	0.138	0.253	0.390	0.458	0.535	0.667	0.882
平均 OD 值	0.061	0.139	0.254	0.39	0.463	0.540	0.667	0.879
绝对 OD 值	0	0.078	0.193	0.329	0.402	0.479	0.606	0.818

②按上表数据绘制标准曲线, 如下图所示:



附录2 实例分析

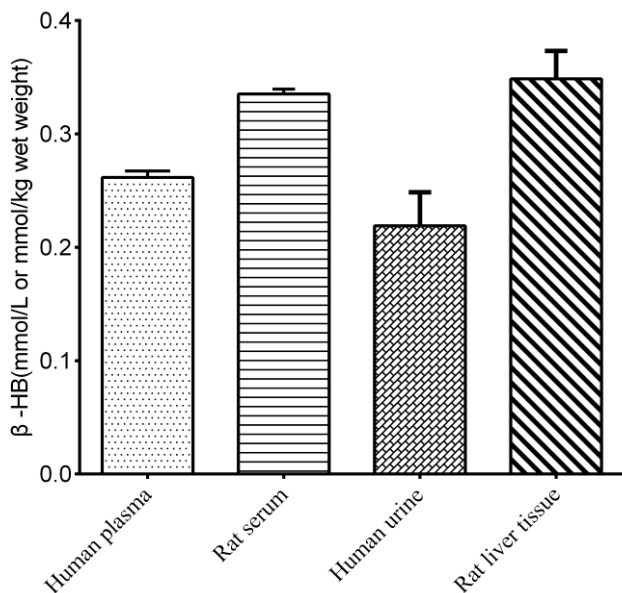
例如检测大鼠血清样本(数据仅供参考):

取大鼠血清样本10 μL , 按说明书操作表操作, 结果如下:

标准曲线: $y = 0.5349x - 0.0025$, 空白孔OD值为0.094, 样本测定孔OD值为0.319, 计算结果为:

$$\beta\text{-羟基丁酸} \text{ (mmol/L)} = \frac{0.319 - 0.094 + 0.0025}{0.5349} = 0.42 \text{ mmol/L}$$

按照说明书, 测定人血浆(加样量10 μL)、大鼠血清(加样量10 μL)、人尿液(加样量10 μL)及大鼠肝组织(加样量10 μL)的 β -羟基丁酸含量(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
显色不明显或不显色	β -羟基丁酸含量过低或加入试剂顺序不对	增大样本浓度或严格按照说明书进行操作
测试样本浓度偏低	样本没有除蛋白	对待测样本进行超滤或化学法除蛋白

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。

附录4 客户发表文献

1. Peng Hao, Chen Binbin, Wei Wei et al. N-methyladenosine (mA) in 18S rRNA promotes fatty acid metabolism and oncogenic transformation.[J] .Nat Metab, 2022, 4: 1041-1054. IF:19.864
2. Inmaculada López-Almela, Marina Roman Pérez, Bullich-Vilarrubias C, et al. Bacteroides uniformis combined with fiber amplifies metabolic and immune benefits in obese mice[J]. Gut Microbes, 2021, 13(1), 1865706. IF:10.245
3. Omar N, Frank J, Kruger J, et al. Effects of High Intakes of Fructose and Galactose, with or Without Added Fructooligosaccharides, on Metabolic Factors, Inflammation, and Gut Integrity in a Rat Model[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2021:2001133. IF:5.914
4. Zhu T, Wang Z, Zou T, et al. SOAT1 Promotes Gastric Cancer Lymph Node Metastasis Through Lipid Synthesis. Front Pharmacol. 2021; 12:769647. IF:5.81
5. Zeng X Peng, Wang L J, Guo L H, et al. Dasatinib ameliorates chronic pancreatitis induced by caerulein via anti- fibrotic and anti-inflammatory mechanism[J]. Pharmacological Research, 2019, 147, 104357. IF:5.574
6. Liu K , Zhao X , Qi X , et al. Design, synthesis, and biological evaluation of a novel dual peroxisome proliferator-activated receptor alpha/delta agonist for the treatment of diabetic kidney disease through anti-inflammatory mechanisms[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2021, 218, 113388. IF:5.572
7. Jung D S, Son Y J, Shin J M, et al. Gymnaster Koraiensis Extract Alleviated Metabolic Syndrome Symptoms and Stimulated UCP1-Independent Energy Consumption via AMPK Activation in White Adipose Tissue[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2020. IF:5.309
8. Wang L J, He L, Hao L, et al. Isoliquiritigenin ameliorates caerulein-induced chronic pancreatitis by inhibiting the activation of PSCs and pancreatic infiltration of macrophages[J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2020. IF:4.486
9. Ar?can E Y, Kayal? D G, Karaca B U, et al. Reproductive effects of subchronic exposure to acetamiprid in male rats[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 1-10. IF:3.998
10. Luo Y, Qiao X, Ma Y, et al. Disordered metabolism in mice lacking irisin[J]. Scientific Reports, 2020, 10(2). IF:3.998
11. Wang C , Hu N H , Yu L Y , et al. 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside attenuates hepatic steatosis via IKKβ/NF-kB and Keap1-Nrf2 pathways in larval

- zebrafish[J]. *BIOMEDICINE & PHARMACOTHERAPY*, 2020, 127: 110138. IF:3.743
12. Yu H, Zhang L, Chen P, et al. Dietary bile acids enhance growth, and alleviate hepatic fibrosis induced by a high starch diet via AKT/FOXO1 and cAMP/AMPK/SREBP1 pathway in *Micropterus salmoides*[J]. *Frontiers in Physiology*, 2019, 10. IF:3.367
 13. Gomaa A A, Farghaly H S M, Dalia A, et al. Inhibition of adiposity and related metabolic disturbances by polyphenol-rich extract of *Boswellia serrata* gum through alteration of adipo/cytokine profiles[J]. *Inflammopharmacology*, 2018: 1-11. IF:3.304
 14. ul Haq M E, Akash M S H, Rehman K, et al. Chronic exposure of bisphenol A impairs carbohydrate and lipid metabolism by altering corresponding enzymatic and metabolic pathways[J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2020: 103387. IF:3.292
 15. Messiha B A S, Ali M R A, Khattab M M, et al. Perindopril ameliorates experimental Alzheimer's disease progression: role of amyloid β degradation, central estrogen receptor and hyperlipidemic-lipid raft signaling[J]. *Inflammopharmacology*, 2020. IF:3.283
 16. Kilany O E, Abdelrazek H M A, Aldayel T S, et al. Anti-obesity potential of *Moringa olifera* seed extract and lycopene on high fat diet induced obesity in male Sprague Dawley rats[J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2020, 27(10): 2733-2746. IF:2.802
 17. Akinnuga A M, Siboto A, Khumalo B, et al. Bredemolic Acid Improves Cardiovascular Function and Attenuates Endothelial Dysfunction in Diet-Induced Prediabetes: Effects on Selected Markers[J]. *Cardiovascular Therapeutics*, 2020, 2020. IF:2.538
 18. Badmus O O, Sabinari I W, Olatunji L A. Dexamethasone increases renal free fatty acids and xanthine oxidase activity in female rats: could there be any gestational impact?[J]. *Drug and Chemical Toxicology*, 2020: 1-12. IF:2.405
 19. Gao G, Xie Z S, Li E W, et al. Dehydroabietic acid improves nonalcoholic fatty liver disease through activating the Keap1/Nrf2-ARE signaling pathway to reduce ferroptosis[J]. *Journal of Natural Medicines*, 2021:1-13. IF:2.343
 20. Wang F, Chen H, Chen Y, et al. Diet-induced obesity is associated with altered expression of sperm motility-related genes and testicular post-translational modifications in a mouse model[J]. *Theriogenology*, 2020. IF:2.094
 21. Akinnuga A M, Siboto A, Khumalo B, et al. Bredemolic Acid Ameliorates Selected Liver Function Biomarkers in a Diet-Induced Prediabetic Rat Model[J]. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2020, 2020. IF:2.055
 22. Rahman S U, Huang Y, Zhu L, et al. Tea polyphenols attenuate liver inflammation by modulating obesity-related genes and down-regulating COX-2 and iNOS expression in

high fat-fed dogs[J]. *BMC Veterinary Research*, 2020, 16(1): 1-12. IF:1.835

23. Adeyemi W J, Abdussalam T A, Abdulrahim A, et al. Elevated, sustained, and yet reversible biotoxicity effects of lead on cessation of exposure: Melatonin is a potent therapeutic option[J]. *Toxicology and Industrial Health*, 2020, 36(7): 477-486. IF:1.708
24. Hassan S, Moustafa A, Kabil S L, et al. Alagebrium Mitigates Metabolic Insults in High Carbohydrate and High Fat Diet Fed Wistar Rats[J]. *Pharmaceutical Sciences*, 2020, 26(1): 13-24. IF:1.24
25. Dewi L, Lestari L A, Astiningrum A N, et al. The Alleviation Effect of Combination of Tempeh and Red Ginger Flour towards Insulin Sensitivity in High-Fat Diet Rats[J]. *Journal of Food and Nutrition Research*, 2020, 8(1): 21-25. IF:0.756
26. USLU H, USLU G A, ?ZEN H, et al. Effects of different doses of *Prunus laurocerasus* L. leaf extract on oxidative stress, hyperglycaemia and hyperlipidaemia induced by type I diabetes[J]. 2018.
27. Olakanmi Bodun O, Olorundare Olufunke E, Afolabi Olanrewaju O, et al. Assessment of the Effects of Crude Methanolic Extracts (Leaf and Twig) of *Loranthus micranthus* on Streptozotocin Induced Diabetic Rats[J]. *Journal of Diabetes and Islet Biology*, 2020, 10: 2641-8975.
28. Singh P, Garg R, Goand U K, et al. Combination of Pancreastatin inhibitor PSTi8 with metformin inhibits Fetuin-A in type 2 diabetic mice[J]. *Heliyon*, 2020, 6(10): e05133.