

(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-K171-M

产品规格: 48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器: 酶标仪 (365-375 nm)

Elabscience®总羰基含量比色法测试盒

Total Carbonyl 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

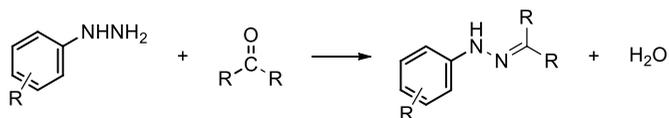
具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清、血浆及动植物组织样本中总羰基的含量。

检测原理

羰基可与苯肼反应生成一种腙类物质（如下图），在 370 nm 处有特征吸收峰，可通过比色测定吸光度值，计算出羰基含量。



提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48T)	规格 2 (Size 2)(96T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	显色剂储备液 (Chromogenic Agent Stock Solution)	1.5 mL×1 支	1.5 mL×2 支	2-8°C避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	100 µg/mL 标准品 (100 µg/mL Standard)	1 mL×1 支	1 mL×1 支	2-8°C 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（365-375 nm，最佳检测波长 370 nm）

试剂：双蒸水、生理盐水（0.9% NaCl）或 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室温。

② 显色剂工作液配制：

按试剂一：双蒸水为1：6的体积比混匀，配成工作液，现用现配，2-8°C保存7天。

③ 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(μg/mL)	0	5	10	20	25	30	40	45
100 μg/mL 标准品(μL)	0	10	20	40	50	60	80	90
去离子水(μL)	200	190	180	160	150	140	120	110

样本准备

① 样本处理

血清血浆等液体样本：可直接测定。

组织样本：匀浆介质是 PBS（0.01 M，pH 7.4）或生理盐水（0.9% NaCl），匀浆离心后取上清进行测定。

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，不同样本的稀释如下表（仅供参考）：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
猪血清	1-2	10%大鼠肾匀浆	3-5
人血清	1-2	10%大鼠肝匀浆	3-5
人血浆	1-2	10%绿萝叶匀浆	不稀释

注：稀释液为生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）。

实验关键点

- ① 样本处理后的上清液必须澄清。
- ② 若使用冻存样本，使用前都需 $10000 \times g$ ，离心 10 min，取清澈溶液测定。

操作步骤

- ① 标准孔：取 24 μL 不同浓度标准品，加入到对应的标准孔中；
测定孔：取 24 μL 待测样本，加入到对应的测定孔中。
- ② 步骤①中的各孔加 175 μL 显色剂工作液。
- ③ 酶标仪振板 3 s，室温静置 5 min，酶标液 370 nm 处，测定各孔 OD 值。

操作表

	标准孔	测定孔
不同浓度的标准品(μL)	24	--
待测样本(μL)	--	24
显色剂工作液(μL)	175	175
酶标仪振板 3 s，室温静置 5 min，酶标仪 370 nm 处，测定各孔 OD 值。		

结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

血清样本：

$$\text{总羰基含量 } (\mu\text{g/mL}) = (\Delta A_{370} - b) \div a \times f$$

组织样本：

$$\text{总羰基含量 } (\mu\text{g/g}) = (\Delta A_{370} - b) \div a \div \frac{m}{V} \times f$$

注解：

y: 标准品平均 OD 值

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

ΔA_{370} : 样本 OD 值-空白 OD 值

V: 样本匀浆介质加入量(mL)

m: 组织样本质量 (g)

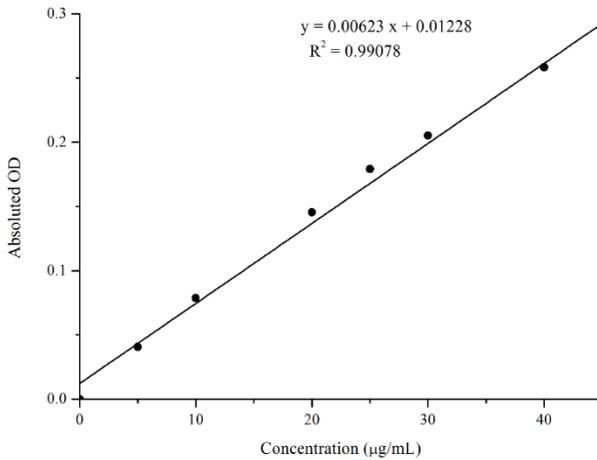
f: 样本加入检测体系之前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	1.29-45 $\mu\text{g}/\text{mL}$	平均批间差	5.0 %
灵敏度	1.29 $\mu\text{g}/\text{mL}$	平均批内差	1.9 %
平均回收率	101 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



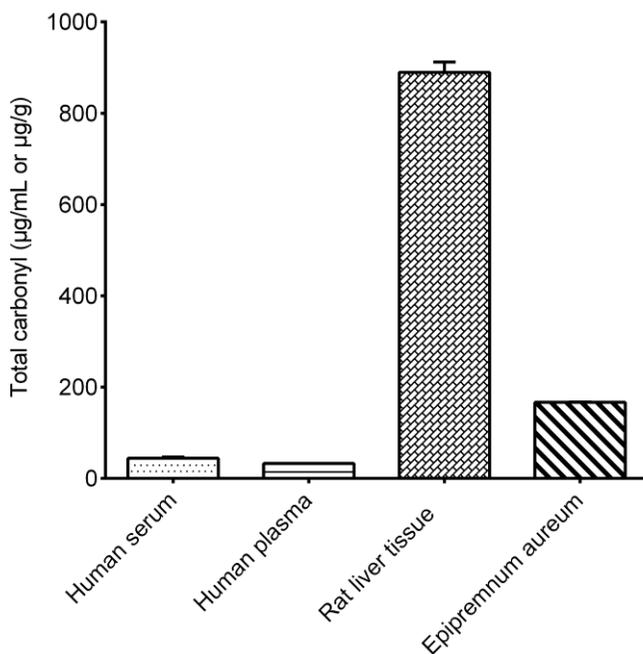
附录2 实例分析

例如检测人血清(数据仅供参考):

取24 μL 人血清,按照操作表检测,结果如下:总羰基的标准曲线: $y = 0.00623x + 0.01228$,测定孔平均OD值为0.729,空白OD值为0.444,计算结果为:

$$\text{总羰基含量} = (0.729 - 0.444 - 0.01228) \div 0.00623 = 43.78 \mu\text{g/mL} \\ (\mu\text{g/mL})$$

按照操作过程,测定人血清(加样量24 μL)、人血浆(加样量24 μL)、大鼠肾脏组织(样本浓度为1/9 g/mL,稀释3倍,加样量24 μL)和绿萝叶组织(样本浓度为1/9 g/mL,加样量24 μL)中总羰基含量(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	样本未离心	离心后使用
	离心不充分, 含有杂质	取出溶液再次离心
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适的稀释倍数, 重新检测
	样本保存时间过长或保存不当	取新鲜样本, 重新检测
样本测量结果 > 45 $\mu\text{g/mL}$	样本浓度太高	选择合适的稀释倍数, 重新检测

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于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。