

β -Hydroxybutyrate Content Assay Kit

β -羟丁酸含量（酶比色法）检测试剂盒说明书

货号:BN72130 | 方法:微板法 | 规格:48 样

一、产品简介:

β -羟丁酸在 β -羟丁酸脱氢酶催化下生成乙酰乙酸。同时氧化型辅酶I被还原成还原型辅酶I即 NADH，通过检测 NADH 在 340nm 处的增加量，即可计算得出样本中 β -羟丁酸含量。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉体 mg $\times$ 1 支	4℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部，再加 0.6mL 蒸馏水溶解备用，用不完的试剂仍 4℃保存；
试剂二	液体 9mL $\times$ 1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 μ L $\times$ 1 支	-20℃保存	临用前甩几下使试剂落入底部，再加 0.55mL 蒸馏水混匀，分装后于-20℃保存；
标准品	粉体 mg $\times$ 1 支	4℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部，再加 2mL 蒸馏水溶解即标准品浓度为 100 mmol/L；再用蒸馏水稀释 20 倍成 5mmol/L 备用检测。

三、所需仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、离心机、水浴锅、蒸馏水。

四、 β -羟丁酸含量检测:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备:

① 液体样品:澄清的液体样本可直接检测。若浑浊可离心后取上清液测定。

② 组织样本:

称取 0.1g 组织（水分充足的样本建议取 0.2g 左右），加 1mL 的生理盐水或磷酸缓冲液研磨，粗提液全部转移到 EP 管中，12000rpm，常温离心 10min，上清液待测。

③ 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 生理盐水或磷酸缓冲液，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000rpm，常温离心 10min，上清液待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量(10^4): 提取液(mL)为 500~1000: 1 的比例进行提取。

2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min，设定波长到 340nm。

② 所有试剂解冻至室温（25℃），或置于 25℃水浴中孵育 15min 左右。

③ 试剂一和二可按照 10:170 比例混成混合液（一枪加 180 μ L）（该混合液用多少配多少，现配现用）；

④ 在 96 孔板中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	标准管 (仅测一次)	空白管 (仅测一次)
样本	10		
标准品		10	
蒸馏水			10
试剂一	10	10	10
试剂二	170	170	170
混匀, 37°C 孵育 5min 后, 于 340nm 处读取各管吸光度 A1。			
试剂三	10	10	10
混匀, 37°C 孵育 10min 后, 于 340nm 处读取各管吸光度 A2。ΔA=A2-A1。			

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、按照体积计算：

$$\begin{aligned}\beta\text{-羟丁酸}(\text{mmol/L}) &= (\text{C 标准} \times \text{V 标}) \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \div \text{V1} \times \text{D} \\ &= 5 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \times \text{D}\end{aligned}$$

2、按照组织质量计算：

$$\begin{aligned}\beta\text{-羟丁酸}(\mu\text{mol/g 重量}) &= (\text{C 标准} \times \text{V 标}) \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\text{W} \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} \\ &= 5 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \div \text{W} \times \text{D}\end{aligned}$$

3、按照蛋白浓度计算：

$$\begin{aligned}\beta\text{-羟丁酸}(\mu\text{mol/mg prot}) &= (\text{C 标准} \times \text{V 标}) \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\text{Cpr} \times \text{V1}) \times \text{D} \\ &= 5 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \div \text{Cpr} \times \text{D}\end{aligned}$$

4、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned}\beta\text{-羟丁酸}(\text{nmol}/10^4\text{cell}) &= (\text{C 标准} \times \text{V 标}) \times 10^3 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \\ &\quad \div (500 \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} \\ &= 5000 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \div 500 \times \text{D}\end{aligned}$$

C 标准---标品浓度, 5mmol/L=5μmol/mL; V 标---标准品取样体积, 0.01mL;
V1---取样体积, 0.01mL; V---加入提取液体积, 1mL;
W---样本鲜重, g; 500---细胞数量, 万;
D---稀释倍数, 未稀释即为 1;
Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL; 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。