

Homocysteine (HCY) Assay Kit

同型半胱氨酸 (HCY) (酶循环法) 检测试剂盒说明书

货号: G1219W48 | 方法: 微板法 | 规格: 48 样

一、产品简介:

氧化型同型半胱氨酸经三乙羧乙基膦 (TCEP) 还原形成游离型 HCY, 游离型 HCY 与底物反应循环放大, 同时产生腺苷。腺苷立即水解成氨和次内嘌呤, 氨在谷氨酸脱氢酶的作用下, 使 NADH 转换成 NAD⁺, 通过检测反应中 NADH 于 340nm 处下降速率, 进而计算出 HCY 的含量。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 8mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂二	液体 2.5mL×1 支	4°C 保存	
标准管	液体 0.2mL×1 支	4°C 保存	浓度为 28μmol/L。

三、所需仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、离心机、蒸馏水。

四、同型半胱氨酸 (HCY) 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 组织样本:

取约 0.1g 组织样本, 加 1mL 的生理盐水研磨, 粗提液全部转移到 EP 管中, 12000rpm, 常温离心 10min, 上清液待测。

② 液体样品: 澄清的液体可直接检测; 若浑浊则离心后取上清液检测。

2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min, 设置温度在 37°C, 设定波长到 340nm。

② 所有试剂解冻至室温, 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)	标准管 (仅做一次)
样本	10		
蒸馏水		10	
标准品			10
试剂一	150	150	150
混匀, 37°C 孵育 5min。			
试剂二	40	40	40
混匀, 37°C 孵育 2min 后于 340nm 处读取吸光值 A1, 接着 5min 后再读取 A2, $\Delta A = A1 - A2$ 。			

【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、按照质量计算：

$$\begin{aligned} \text{同型半胱氨酸(HCY)}(\text{nmol/g}) &= (\text{C 标准} \times \text{V}_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} / \text{T} - \Delta A_{\text{空白}} / \text{T}) \div (\Delta A_{\text{标准}} / \text{T} - \Delta A_{\text{空}} / \text{T}) \div (\text{V}_1 \div \text{V} \times \text{W}) \times \text{D} \\ &= 28 \times (\Delta A_{\text{测定}} / \text{T} - \Delta A_{\text{空白}} / \text{T}) \div (\Delta A_{\text{标准}} / \text{T} - \Delta A_{\text{空}} / \text{T}) \div \text{W} \times \text{D} \end{aligned}$$

2、按照体积计算：

$$\begin{aligned} \text{同型半胱氨酸(HCY)}(\mu\text{mol/L}) &= (\text{C 标准} \times \text{V}_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} / \text{T} - \Delta A_{\text{空白}} / \text{T}) \div (\Delta A_{\text{标准}} / \text{T} - \Delta A_{\text{空}} / \text{T}) \div \text{V}_1 \times \text{D} \\ &= 28 \times (\Delta A_{\text{测定}} / \text{T} - \Delta A_{\text{空白}} / \text{T}) \div (\Delta A_{\text{标准}} / \text{T} - \Delta A_{\text{空}} / \text{T}) \times \text{D} \end{aligned}$$

C 标准---标品浓度，28 $\mu\text{mol/L}$ =28 nmol/mL ；

$\Delta A/\text{T}$ ---每分钟吸光度变化率；

V1---加入样本体积，0.01 mL ；

V2---加入标准品体积，0.01 mL ；

V---提取液体积，1 mL ；

W---质量，g；

D---稀释倍数，未稀释即为1。