上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co.， Ltd
电话：400-666-5481　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：3008007435@qq.com

同型半胱氨酸(HCY)(酶循环法)含量检测试剂盒

微板法

货号：R45116-48S/96S

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。

试剂盒组分与配制：

试剂名称	R45116-48S	R45116-96S	保存要求	备注
试剂一	液体8mL×1瓶	液体16mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	液体2.5mL×1支	液体4.5mL×1支	4℃保存	
标准管	液体0.2mL×1支	液体0.2mL×1支	4℃保存	浓度为28μmolL。

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。

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℃,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℃孵育5min。			
试剂二	40	40	40
混匀，37℃孵育2min后于340nm处读取吸光值A1，接着5min后再读取A2,△A=Al-A2。			

结果计算：

1、按照质量计算：

同型半胱氨酸(HCY)(nmol/g)=(C 标准×V2)×(ΔA测定/T-ΔA空白/T)÷(ΔA标准/T-ΔA空白/T)÷(V1÷V×W)×D

=28×(ΔA测定/T-ΔA空白/T)÷(ΔA标准/T-ΔA空白/T)÷W×D

2、按照体积计算：

同型半胱氨酸(HCY)(μmol/L)=(C标准×V2)×(ΔA测定/T-ΔA空白/T)÷(ΔA标准/T-ΔA空白/T)÷V1×D

=28×(ΔA测定/T-ΔA空白/T)÷(ΔA标准/T-ΔA空白/T)×D

C 标准---标品浓度，28μmolL=28nmol/mL;

ΔA/T---每分钟吸光度变化率；

V1---加入样本体积，0.01mL;

V2--- 加入标准品体积，0.01mL;

V-- 提取液体积，1mL;

W---质量，g;

D---稀释倍数，未稀释即为1。