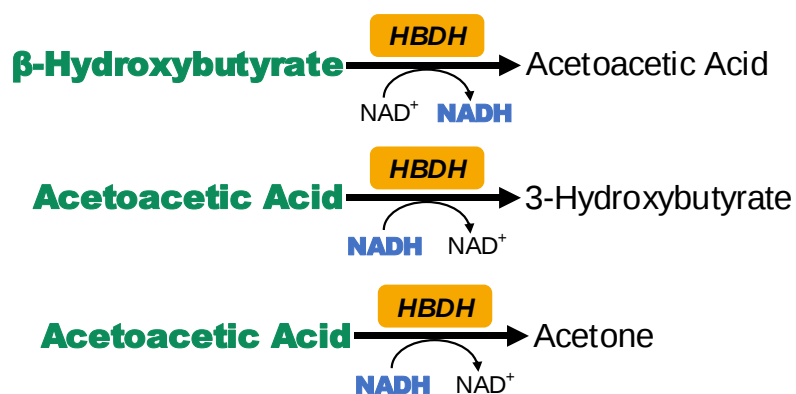




酮体含量检测试剂盒

Ketone Body Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



酮体含量检测试剂盒

Ketone Body Content Assay Kit

一、产品描述

酮体是肝脏脂肪酸氧化分解的中间产物乙酰乙酸、 β -羟丁酸和丙酮的统称，在机体内起着重要的生理功能和代谢调节作用，酮体中丙酮的生成量相当小，生成后即被吸收，乙酰乙酸和 β -羟丁酸则经血流进入肝外组织被氧化，经柠檬酸循环提供能量，在饥饿、低碳水化合物饮食或高强度运动等情况下起着重要的能量供给和代谢调节作用，此外还具有抗氧化、调节胰岛素和葡萄糖代谢等功能。

在 pH7.0 和 37°C 条件下， β -羟丁酸在 β -羟丁酸脱氢酶（HBDH）催化下脱氢生成乙酰乙酸，同时 NAD^+ 被还原为 NADH；在 pH8.8 和 37°C 条件下，乙酰乙酸被 β -羟丁酸脱氢酶（HBDH）还原为 3-羟基丁酸酯或脱羧生成丙酮，同时 NADH 被氧化为 NAD^+ ，NADH 在 340 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测 β -羟丁酸和乙酰乙酸的含量，进而计算出样本中酮体的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 55 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 55 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂三	粉剂×2 支	-20°C 保存	使用前每支加入 1.2 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存 3 周，避免反复冻融)
试剂四	粉剂×2 支	-20°C 保存	使用前每支加入 600 μL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存 3 周，避免反复冻融)
试剂五	粉剂×3 支	-20°C 保存	使用前每支加入 400 μL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存 3 周，避免反复冻融)
标准品 A	粉剂×1 支 (8 mg 3-羟基丁酸钠)	4°C 保存	使用前加入 980 μL 蒸馏水充分溶解 (即为 8 mg/mL 3-羟基丁酸钠标准液)
标准品 B	粉剂×1 支 (8 mg 乙酰乙酸锂)	-20°C 保存	使用前加入 950 μL 蒸馏水充分溶解 (即为 8 mg/mL 乙酰乙酸锂标准液)
标准应用液 A 的制备 (现用现配): 将 8 mg/mL 3-羟基丁酸钠标准液使用蒸馏水稀释至 0.2 mg/mL。 标准应用液 B 的制备 (现用现配): 将 8 mg/mL 乙酰乙酸锂标准液使用蒸馏水稀释至 0.05 mg/mL。			

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：紫外分光光度计、1 mL 石英比色皿（光径 10 mm）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 样本处理

血清、血浆和尿液等液体样本：直接测定或适当稀释后再进行测定，若样本浑浊应离心取上清后进行测定。

2. 测定步骤

2.1 β -羟丁酸含量测定

①紫外分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。

②检测工作液 A 的制备（现用现配）：根据使用量按试剂一：试剂三：试剂五=85:4:1 的体积比配制并充分混匀，37°C 预热 15 min 后使用，配制后 4 h 有效。

③在 1 mL 石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	标准组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	100	-	-
标准应用液 A	-	100	-
蒸馏水	-	-	100
检测工作液 A	900	900	900

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 20 s 时（总时间）340 nm 处吸光值，记为 A1 测定、A1 标准和 A1 空白；②37°C 准确反应 300 s，测定 320 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A2 测定、A2 标准和 A2 空白；③计算 ΔA 测定=A2 测定-A1 测定， ΔA 标准=A2 标准-A1 标准， ΔA 空白=A2 空白-A1 空白。注：标准组和空白组只需测定 1-2 次。

④ β -羟丁酸含量计算

$$\beta\text{-羟丁酸含量 } (\mu\text{mol/mL}) = \frac{C \text{ 标 A} \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \times 10^3}{(\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \times 126.09} = \frac{1.586 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白})}{(\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白})}$$

注释：C 标 A：标准应用液 A 浓度，0.2 mg/mL；126.09：3-羟基丁酸钠分子量，126.09； 10^3 ：单位换算系数，1 mmol= 10^3 μmol 。

2.2 乙酰乙酸含量测定

①紫外分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。

②检测工作液 B 的制备（现用现配）：根据使用量按试剂二：试剂四：试剂五=87:2:1 的体积比配制并充分混匀，37℃预热 15 min 后使用，配制后 4 h 有效。

③在 1 mL 石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	标准组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	100	-	-
标准应用液 B	-	100	-
蒸馏水	-	-	100
检测工作液 B	900	900	900

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 20 s 时（总时间）340 nm 处吸光值，记为 A1 测定、A1 标准和 A1 空白；②37℃准确反应 300 s，测定 320 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A2 测定、A2 标准和 A2 空白；③计算 ΔA 测定=A2 测定-A1 测定， ΔA 标准=A2 标准-A1 标准， ΔA 空白=A2 空白-A1 空白。注：标准组和空白组只需测定 1-2 次。

④乙酰乙酸含量计算

$$\text{乙酰乙酸含量 } (\mu\text{mol/mL}) = \frac{C \text{ 标 B} \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \times 10^3}{(\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \times 108.02} = \frac{0.463 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白})}{(\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白})}$$

注释：C 标 B：标准应用液 B 浓度，0.05 mg/mL；108.02：乙酰乙酸锂分子量，108.02； 10^3 ：单位换算系数，1 mmol= 10^3 μmol。

3. 酮体含量计算

$$\text{酮体含量 } (\mu\text{mol/mL}) = \beta\text{-羟丁酸含量 } (\mu\text{mol/mL}) + \text{乙酰乙酸含量 } (\mu\text{mol/mL})$$

四、注意事项

①若测定 A1 测定大于 1.5 或 ΔA 测定大于 0.2，建议将待测样本适当稀释后再进行测定；若 ΔA 测定小于 0.02，建议适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

