

同型半胱氨酸（HCY）（酶循环法）检测试剂盒说明书

（微板法 96 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 16mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 4.5mL×1 支	4℃保存	
标准管	液体 0.2mL×1 支	4℃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℃，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， $\Delta A = A1 - A2$ 。			

【注】：1. 若 5min 内的 ΔA 值大于 0.4，须用蒸馏水对样本进行稀释，稀释倍数 D 代入计算公式。

2. 若 ΔA 的值小于 0.005，可增加样本加样体积 V1（如由 10μL 增至 20μL，空白管也由 10μL 增至 20μL 蒸馏水，标准管是 10μL 标准品和 10μL 蒸馏水；其他试剂均保持不变），或者读取 A1 后，延长至 15min 后再读取 A2。则改变后的 V1 和 ΔA 和 T 代入公式重新计算。

五、结果计算：

1、按照质量计算：

$$\begin{aligned}\text{同型半胱氨酸(HCY)}(\text{nmol/g}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\Delta A_{\text{测定}} / \text{T} - \Delta A_{\text{空白}} / \text{T}) \div (\Delta A_{\text{标准}} / \text{T} - \Delta A_{\text{空}} / \text{T}) \div (\text{V1} \div \text{V} \times \text{W}) \times \text{D} \\ &= 28 \times (\Delta A_{\text{测定}} / \text{T} - \Delta A_{\text{空白}} / \text{T}) \div (\Delta A_{\text{标准}} / \text{T} - \Delta A_{\text{空}} / \text{T}) \div \text{W} \times \text{D}\end{aligned}$$

2、按照体积计算：

$$\begin{aligned}\text{同型半胱氨酸(HCY)}(\mu\text{mol/L}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\Delta A_{\text{测定}} / \text{T} - \Delta A_{\text{空白}} / \text{T}) \div (\Delta A_{\text{标准}} / \text{T} - \Delta A_{\text{空}} / \text{T}) \div \text{V1} \times \text{D} \\ &= 28 \times (\Delta A_{\text{测定}} / \text{T} - \Delta A_{\text{空白}} / \text{T}) \div (\Delta A_{\text{标准}} / \text{T} - \Delta A_{\text{空}} / \text{T}) \times \text{D}\end{aligned}$$

C 标准---标品浓度，28μmol/L=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。