

琥珀酸检测试剂盒（比色法）

产品货号：26882

产品规格：96T

检验原理：

琥珀酸通过酶试剂催化下与显色剂生成有颜色的物质在波长555nm处有最大吸收，通过测定555nm处的OD值大小和标准曲线可以计算样本中琥珀酸含量。

用途说明：

本试剂盒适用于检测血清(浆)、动物组织及细胞样本中的琥珀酸的含量。

检测类型：

血清（浆）；动物组织；细胞

检测范围：

0.043-0.5mmol/L

产品组成：

产品名称	规格	保存条件
缓冲液 A	50mL	-20℃
缓冲液 B	50mL	-20℃
底物	粉末×2	-20℃，避光
促进剂	粉末×2	-20℃，避光
酶试剂 A	0.5mL	-20℃，避光
酶试剂 B	1.5mL	-20℃，避光
显色剂	5mL	-20℃，避光
4mmol/L标准品溶液	1mL	-20℃，避光
96 孔酶标板	1板	-
96 孔覆膜	2张	-
样本位置标记表	1张	-

说明：

1. 试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。
2. 对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品：

仪器：酶标仪(550-560nm，最佳检测波长555nm)、37℃恒温箱

耗材：10KD超滤管

试剂准备：

1. 检测前，试剂盒中的试剂平衡至 25℃。
2. 试剂三工作液的配制：取一支试剂三加入 0.5mL 试剂一混匀溶解，置于冰上避光待用，未使用完的-20℃避光保存，2 天内使用有效。
3. 试剂四工作液的配制：取一支试剂四加入 1.5mL 试剂二混匀溶解，置于冰上避光待用，未使用完的-20℃避光保存，2 天内使用有效。
4. 试剂五工作液的配制：将试剂一：试剂五按体积比=9：1 配制，置于冰上避光待用，现配现用，1 天内使用有效。
5. 测定工作液的配制：将试剂一：试剂三工作液按体积比= 14：1 配制，置于冰上避光待用，现配现用，1 天内使用有效。
6. 显色工作液的配制：将试剂二：试剂四工作液：试剂六：试剂七按体积比=26：2：2：6 配制，在加入测定工作液至板孔后的孵育 阶段进行配制，置于冰上避光待用。30min 内使用有效。
7. 0.5mmol/L 标准品的配制：将双蒸水：试剂八按体积比=7：1 配制，避光待用，现配现用，一天内使用



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

有效。

8. 不同浓度标准品的稀释:

编号	1	2	3	4	5	6	7	8
标准品浓度(mmol/L)	0	0.10	0.15	0.20	0.30	0.35	0.40	0.50
0.5mmol/L标准品(μL)	0	40	60	80	120	140	160	200
双蒸水(μL)	200	160	140	120	80	60	40	0

样本准备:

1. 样本处理

血清(浆)样本: 取100-500μL上清, 加入到10KD超滤管, 12000×g离心15min, 取外管滤出液待测。

组织样本: 按照组织样本质量(g): 双蒸水体积(mL)=1: 9的比例匀浆, 4℃, 10000×g离心10min。取100-500μL上清, 加入到10KD超滤管, 12000×g离心15min, 取外管滤出液待测。

细胞样本: 取1×10⁶个细胞, 加入200μL双蒸水匀浆处理细胞。4℃, 10000×g离心10min。取上清, 加入到10KD超滤管, 12000×g离心15min, 取外管滤出液待测。

2. 样本的稀释在正式检测前, 需选择 2-3 个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验, 根据预实验的结果, 结合本试剂盒的线性范围: 0.043-0.5mmol/L, 请参考下表稀释(仅供参考):

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%小鼠肝组织	不稀释	人血清	不稀释
10%小鼠肾组织	不稀释	1×10 ⁶ 个Molt-4细胞	不稀释
10%大鼠肝组织	不稀释	1×10 ⁶ 个HL-60细胞	不稀释
10%大鼠心组织	不稀释	1×10 ⁶ 个Jurkat细胞	不稀释
10%大鼠肺组织	不稀释	1×10 ⁶ 个Hela细胞	不稀释

注: 稀释液为双蒸水。

操作步骤:

- 标准孔: 取 20μL 不同浓度标准品溶液, 分别加入相应的酶标孔中;
测定孔: 取20μL待测样本加入相应的酶标孔中;
对照孔: 取20μL待测样本加入相应的酶标孔中。
- 向步骤 1 中标准孔和测定孔加入 30μL 试剂五工作液;
向步骤1中对照孔加入30μL试剂一。
- 向步骤 2 中各孔加入 80μL 测定工作液。
- 振板 5s, 37℃ 避光孵育 5min。
- 向 4 中各孔加入 120μL 显色工作液。
- 振板 5s, 37℃ 避光孵育 15min, 酶标仪 555nm 波长下检测各孔 OD 值。

操作表:

	标准孔	测定孔	对照孔
不同浓度的标准品溶液(μL)	20	-	-
待测样本(μL)	-	20	20
试剂五工作液(μL)	30	30	-
试剂一(μL)	-	-	30
测定工作液(μL)	80	80	80
振板5s, 37℃避光孵育5min			
显色工作液(μL)	120	120	120
振板5s, 37℃避光孵育15min, 酶标仪555nm波长下检测各孔OD值。			

结果计算:

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

1. 血清(浆)中琥珀酸含量计算公式:



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

琥珀酸含量 (mmol/L) = $(\Delta A_{555} - b) \div a \times f$

2. 组织样本中琥珀酸含量计算公式:

琥珀酸含量 (mmol/Kg wet weight) = $(\Delta A_{555} - b) \div a \div \frac{m}{V} \times f$

3. 细胞样本中琥珀酸含量计算公式:

琥珀酸含量 ($\mu\text{mol}/10^6$) = $(\Delta A_{555} - b) \div a \div \frac{n}{V} \times f$

注解:

y: 标准品OD值-空白OD值(标准品浓度为0时的OD值)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

ΔA_{555} : $A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

m: 组织湿重质量, g

n: 细胞样本数量, 10^6

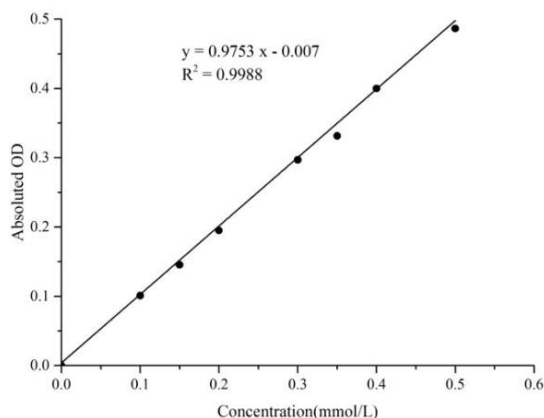
V: 样本匀浆液体积, mL

标准曲线(数据仅供参考)

1. 不同浓度标准品加样量 20 μL , 按照操作步骤进行实验, OD 值如下表所示:

标准品浓度(mmol/L)	0	0.10	0.150	0.20	0.30	0.35	0.40	0.50
OD值	0.405	0.496	0.548	0.598	0.684	0.733	0.797	0.884
	0.390	0.501	0.538	0.587	0.705	0.725	0.798	0.884
平均OD值	0.398	0.499	0.543	0.593	0.695	0.729	0.798	0.884
绝对OD值	0.000	0.101	0.146	0.195	0.297	0.332	0.400	0.487

2. 绘制标曲(如下图)



保存方法:

-20°C, 避光, 有效期6个月。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com