

草酰乙酸检测试剂盒（比色法）

产品货号：26876

产品规格：48T

检验原理：

草酰乙酸(OAA)是三羧酸循环中间体之一，也是生物体内碳氮代谢中的一个重要物质。草酰乙酸在酶的作用下与底物乙酰辅酶A发生反应，生成的物质可与DTNB发生显色反应，该产物在412nm处有最大吸收峰，通过测定吸光度的值来测定草酰乙酸的含量。

产品内容：

产品名称	48T	保存条件
试剂一：缓冲液	10mL	-20℃
试剂二：底物	1mL	-20℃，避光
试剂三：酶试剂	酶液×1支	-20℃，避光
试剂四：显色	1.2mL	-20℃，避光
试剂五：标准品	粉末×1	-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，不同试剂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。

用途说明： 本试剂盒适用于检测动物组织样本中草酰乙酸的含量。

检测类型： 动物组织

检测范围： 0.017-1mmol/L

使用方法

一、所需自备物品：

仪器：酶标仪(402-422nm，最佳检测波长412nm)，恒温箱(37℃)

试剂：生理盐水(0.9% NaCl)

耗材：50KD超滤管

二、试剂准备：

1. 检测前，所有试剂平衡至室温。

2. 试剂二工作液配制：

将试剂一与试剂二按照9:1体积比进行混合，充分混匀后避光待用，未使用完的工作液分装后-20℃避光保存，7天内使用完毕。

3. 试剂三工作液配制：

取一支试剂三加入1170 μL双蒸水混匀，充分混匀后置于冰盒上避光待用，配好的工作液两周内使用完毕。

4. 50mmol/L 标准品配制：

取一支试剂五，加入1mL双蒸水溶解混匀，配制好的标准品溶液置于冰盒上避光保存，未使用完毕的工作液-20℃避光保存7天。



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

5. 1mmol/L 标准品配制:

将50 mmol/L标准品与双蒸水按照1: 49的体积比进行稀释, 稀释后的溶液即为1mmol/L标准品, 现配现用。

6. 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	0.1	0.2	0.3	0.5	0.6	0.8	1.0
1mmol/L标准品(μL)	0	20	40	60	100	120	160	200
双蒸水(μL)	200	180	160	140	100	80	40	0

三、样本准备:

1. 样本处理

组织样本: 取0.1g新鲜组织, 加入0.9mL生理盐水 (0.9% NaCl) 匀浆, 4°C, 12000×g离心15min, 取上清用50KD超滤管离心过滤, 收集滤液待测。

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: 0.017-1mmol/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%大鼠肝组织	不稀释	10%大鼠脑组织	不稀释
10%大鼠肺组织	不稀释	10%小鼠肝组织	不稀释
10%小鼠肾组织	不稀释	释10%小鼠腿部肌肉	不稀释
10%猪心组织	不稀释	人尿液	不稀释

注: 稀释液为生理盐水 (0.9%NaCl)。

四、实验关键点:

1. 所有需避光试剂要严格避光保存。
2. 试剂四使用前需进行混匀, 使用过程置于冰盒上避光保存。
3. 试剂一不可加热溶解, 避免反复冻融。

五、操作步骤:

1. 标准孔: 取 20μL 不同浓度的标准品溶液, 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。
2. 向步骤 1 中标准孔和测定孔各加入 140μL 试剂二工作液。
3. 向步骤 2 的各孔中加入 20μL 试剂三工作液。
4. 向步骤 3 的各孔中加入 20μL 试剂四。
5. 振板 5s, 室温避光孵育 3min, 酶标仪于 412nm 波长测定各孔 OD 值。

六、操作表:

	标准孔	测定孔
不同浓度标准品(μL)	20	-
待测样本(μL)	-	20
试剂二工作液(μL)	140	140
试剂三工作液(μL)	20	20
试剂四(μL)	20	20
振板5s, 室温避光孵育3min, 酶标仪于412nm波长测定各孔OD值。		

七、结果计算:

1. 标准品拟合曲线: $y = ax + b$
2. 组织样本中草酰乙酸 (OAA) 含量计算公式:

$$\text{OAA 含量} \quad (\text{mmol/kg wet weight}) = \frac{\Delta A - b}{a} \div \frac{m}{V} \times f$$



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

注解:

y: 标准孔OD值-空白孔OD值(标准品浓度为0时的OD值)

x: 标准品的浓度

a: 标准曲线斜率

b: 标准曲线截距

ΔA : 样本的绝对OD值(测定孔OD值-空白孔OD值)

m: 组织样本的质量, g

V: 匀浆液体积, mL

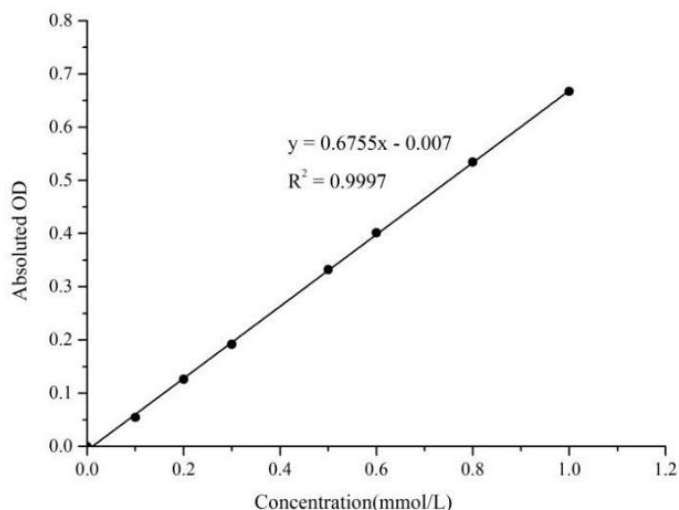
f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

八、标准曲线(数据仅供参考)

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

标准品浓度(mmol/L)	0.00	0.10	0.20	0.30	0.50	0.60	0.80	1.00
OD值	0.287	0.338	0.410	0.474	0.613	0.684	0.823	0.952
	0.269	0.327	0.399	0.466	0.607	0.675	0.802	0.938
平均OD值	0.278	0.333	0.405	0.470	0.610	0.680	0.813	0.945
绝对OD值	0.000	0.055	0.127	0.192	0.332	0.402	0.535	0.667

2. 绘制标曲(如下图)



保存方法:

-20 $^{\circ}$ 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