

## 羟脯氨酸(HYP)测试盒（测培养细胞、培养液）

本试剂盒适用于血清、体液及各种组织匀浆、细胞培养液、培养细胞等样本检测

消化法: 50 管/48 样

### 一、测定原理:

羟脯氨酸在氧化剂的作用下所产生的氧化产物与二甲氨基苯甲醛作用呈现紫红色，根据其呈色的深浅可推算出其含量。

### 二、试剂盒组成与配制:

试剂一：粉剂×1 瓶，甲液 10ml×1 瓶，乙液 20ml×1 瓶，临用时取粉剂一瓶，先加甲液 10ml 充分溶解（从瓶口向内看，完全溶解完）。然后再加乙液 20ml 充分混匀。配好后的试剂 2~8℃ 保存 3 个月。

试剂二：液体 30ml×1 瓶，2~8℃ 避光保存 6 个月。

试剂三：粉剂×1 瓶，溶剂 60ml×1 瓶，临用时将粉剂一支加到 60ml 溶剂中充分溶解，配好后 2~8℃ 避光保存 1 个月有效。

试剂四：羟脯氨酸标准品 5mg×3 支，2~8℃ 保存 6 个月。标准贮备液的配制：测试前将一支标准品用双蒸水溶解后定容至 50ml，配成 100μg/ml 的标准贮备液。

5μg/ml 标准应用液的配制：取 100μg/ml 的标准贮备液用双蒸水 20 倍稀释后，配成 5μg/ml 的标准应用液，现用现配。

消化液：粉剂×1 瓶，溶剂 3ml×1 瓶，2~8℃ 保存 6 个月。临用前将粉剂倒入溶剂中，并用溶剂将粉剂瓶洗干净，现用现配。

### 三、操作步骤:

#### 1、消化:

	空白管	标准管	测定管
--	-----	-----	-----

双蒸水 (ml)	0.25		
5µg/ml 标准应用液 (ml)		0.25	
消化液 (ml)			0.25
混匀, 37°C 水浴 3 小时			

2、羟脯氨酸测定:

	空白管	标准管	测定管
试剂一 (ml)	0.5	0.5	0.5
混匀, 室温静置 10 分钟			
试剂二 (ml)	0.5	0.5	0.5
混匀, 室温静置 5 分钟			
试剂三 (ml)	1.0	1.0	1.0
混匀, 60°C 水浴 15 分钟, 流水冷却后, 3500 转/分离心 10 分钟, 取上清, 在 550nm 处, 1cm 光径, 双蒸水调零, 测各管吸光度。			

四、计  
算公  
式:

1、血清(浆)、细胞上清等液体样本计算公式:

$$\text{羟脯氨酸含量} (\mu\text{g/ml}) = \frac{\text{测定 OD 值} - \text{空白 OD 值}}{\text{标准 OD 值} - \text{空白 OD 值}} \times \text{标准品浓度} (5\mu\text{g/ml}) \times \text{样本测试前稀释倍数}$$

2、组织样本计算公式:

$$\text{羟脯氨酸含量} (\mu\text{g/g 组织}) = \frac{\text{测定 OD 值} - \text{空白 OD 值}}{\text{标准 OD 值} - \text{空白 OD 值}} \times \text{标准品浓度} \div \frac{\text{样本称重 (g)}}{\text{所加匀浆介质 (ml)}}$$