

丙酮酸(PA)含量检测试剂盒(可见分光光度法)

注意: 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号: BA1063

产品规格: 50管/48样

产品简介:

丙酮酸通过乙酰CoA连接葡萄糖、脂肪酸和氨基酸三大代谢,起着重要的枢纽作用。 丙酮酸与2,4-二硝基苯肼作用,生成丙酮酸-2,4-二硝基苯腙,在碱性溶液中呈樱红色。

产品内容:

提取液:液体50mL×1瓶,4℃保存;

试剂一:液体9mL×1瓶, 4℃保存; 试剂二:液体50mL×1瓶, 4℃保存;

丙酮酸钠标准液,1mg/mL: 液体1mL×1瓶, 4 ℃保存。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1 mL玻璃比色皿、研钵、冰、蒸馏水。

操作步骤:

一、丙酮酸提取:

- 1、细菌或培养细胞: 先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;按照细菌或细胞数量(10⁴ 个): 提取液体积(mL)为500~1000: 1 的比例(建500万细菌或细胞加1mL提取液),超声波破碎(冰浴,功率20%或200W,超声3s,间隔10s,重复30次),静置30min,8000g,常温离心10min,取上清待测。
- 2、 组织:按照组织质量 (g):提取液体积(mL)为 1: $5\sim10$ 的比例 (建议称取约 0.1g 组织,加入 1mL 提取液),进行冰浴匀浆,静置 30min,8000g,常温离心 10min,取上清待测。
- 3、 血清(浆)样品:按照血清(浆)体积(mL):提取液体积(mL)为1: $5\sim10$ 的比例(建议取0.1mL 血清(浆)加入1mL 提取液),进行冰浴匀浆,静置30min,8000g,常温离心10min,取上清待测。
- 4、 标准品的准备:将标准品用蒸馏水稀释至100、50、25、12.5、6.25、3.125、1.5625、0g/ml。

二、测定步骤:

- 1、 分光光度计预热 30min 以上,调节波长至 520nm,蒸馏水调零。
- 2、 取 300μL 标准品或样本+100μL 试剂一于 1.5mLEP 管中,混匀,静置 2min,加入 500μL 试剂二,混匀,于 520nm 波长处测定吸光值 A。

三、丙酮酸含量计算:

- 1、 根据标准品浓度和测定值建立标准曲线; y 为丙酮酸钠含量(μg/mL), x 为吸光值。
- 2、 按照血清(浆)体积计算

丙酮酸含量(μ g/mL)=($y\times V1$)÷($V3\times V1\div V2$)= $y\times 10$

3、 按照蛋白浓度计算

丙酮酸含量(μg/mg prot)=(y×V1)÷(V1×Cpr)=y÷Cpr

4、 按照样品质量计算

丙酮酸含量 (μ g/g 鲜重) = (y×V1)÷(W×V1÷V2) =y÷W

5、 按照细菌或细胞密度计算

丙酮酸含量 (μg/10⁴ cell) =(y×V1)÷ (500×V1÷V2) = y÷500

V1: 加入反应体系中样本体积, 0.3mL; V2: 加入提取液体积, 1 mL; V3: 加入血清(浆)体积, 0.1 mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 500: 细菌或细胞总数, 500万。



-扫 加微信