

## 乳酸含量（LA）检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1258

产品规格：50管/24样

### 产品简介：

乳酸是生物体代谢过程中重要的中间产物，与糖代谢、脂类代谢、蛋白质代谢及细胞内能量代谢密切相关，乳酸含量是评估糖元代谢的和有氧代谢的重要指标。乳酸在乳酸脱氢酶的作用下生成丙酮酸，同时使NAD<sup>+</sup>还原生成NADH和H<sup>+</sup>，H<sup>+</sup>传递给PMS生成的PMSH<sub>2</sub>还原MTT生成紫色物质，在570nm处有特征吸收峰。

### 技术指标：

最低检出限：0.0387μmol/mL

线性范围：0.039-1μmol/mL

**注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。**

### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液一	液体30mL×1瓶	4°C
提取液二	液体4mL×1瓶	4°C
试剂一	液体20mL×1瓶	4°C
试剂二	液体60μL×1瓶	4°C
试剂三	粉剂×1瓶	-20°C
试剂四	粉剂×1瓶	4°C
试剂五	粉剂×1瓶	-20°C
试剂六	液体5mL×1瓶	4°C
标准品	粉剂×1支	4°C

### 溶液的配制：

1. 试剂二：液体置于试剂瓶内EP管中。临用前按试剂二（V）：蒸馏水（V）=10μL：450μL的比例配制试剂二溶液，现用现配；
2. 试剂三：临用前加入12mL蒸馏水充分溶解，可分装后-20°C保存，避免反复冻融，-20°C保存一周；
3. 试剂四：临用前加12mL蒸馏水充分溶解，4°C保存一周；
4. 试剂五：临用前每瓶加入8mL蒸馏水混匀，可分装后-20°C保存，避免反复冻融，-20°C保存一周；
5. 标准品：临用前加入1.04mL蒸馏水配成100μmol/mL的标准溶液；
6. 显色液的配制：临用前根据用量按照试剂三（V）：试剂四（V）=1：1的比例充分混匀，现配现用。

### 需自备的仪器和用品：

天平、研钵/匀浆器、离心机、可见分光光度计、1mL玻璃比色皿、恒温水浴锅、乙醇和蒸馏水。

### 操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

1. 组织：按照质量（g）：提取液一体积(mL)为1：5~10的比例（建议称取约0.1g，加入1mL提取液一）加入提取液一，冰浴匀浆后于4℃，12000g离心10min，取0.8mL上清液，再加入0.15mL提取液二，4℃12000g离心10min后取上清待测。
2. 细胞：按照细胞数量（10<sup>4</sup>个）：提取液一体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细胞加入1mL提取液一），冰浴超声波破碎细胞（功率300w，超声3秒，间隔7秒，总时间3min）；于4℃，12000g离心10min，取0.8mL上清液，再加入0.15mL提取液二，4℃12000g离心10min后取上清待测。
3. 血清（浆）：取100μL血清（浆）加入1mL提取液一，4℃，12000g离心10min，取0.8mL上清液，再加入0.15mL提取液二，12000g离心10min后取上清待测。

## 二、测定步骤

1. 分光光度计预热30min以上，波长调至570nm，乙醇调零。
2. 标准液的稀释：将100μmol/mL的标准溶液用蒸馏水稀释为1、0.625、0.3125、0.15625、0.078、0.039μmol/mL的标准溶液待测。
3. 加样表：

	测定管	对照管	标准管	空白管
样本（μL）	50	50	-	-
标准品（μL）	-	-	50	-
蒸馏水（μL）	-	10	-	50
试剂一（μL）	200	200	200	200
试剂二（μL）	50	-	50	50
试剂五（μL）	100	100	100	100
在 EP 管中充分混匀，于 37℃水浴准确反应 20min。				
试剂六（μL）	30	30	30	30
显色液（μL）	300	300	300	300
37℃避光反应 20min 后于 25℃，10000rpm 离心 10min，去上清，留沉淀。				
乙醇（μL）	1000	1000	1000	1000
充分溶解沉淀后，于 570nm 处测定吸光值，分别记为 A 测定管，A 对照管，A 标准管，A 空白管， 计算ΔA 测定=A 测定管-A 对照管；ΔA 标准=A 标准管-A 空白管。				

## 三、乳酸含量的计算

### 1. 标准曲线的绘制

以各标准溶液浓度为 x 轴，以其对应的吸光值（ΔA 标准）为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程  $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入公式中得到 x（μmol/mL）。

### 2. 乳酸含量计算

#### (1) 按照蛋白含量计算

$$\text{LA 含量} (\mu\text{mol}/\text{mg prot}) = x \times V_{\text{样本}} \div (V_{\text{样本}} \times \text{Cpr}) = x \div \text{Cpr}$$

#### (2) 按照样本质量计算

$$\text{LA 含量} (\mu\text{mol}/\text{g 质量}) = x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提取液二}}) \div (W \times V_{\text{上清}} \div V_{\text{提取液一}}) = 1.1875 \times x \div W$$

#### (3) 按照细胞数量计算

$$\text{LA 含量} (\mu\text{mol}/10^6 \text{ cell}) = x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提取液二}}) \div (5 \times V_{\text{上清}} \div V_{\text{提取液一}}) = 0.2375 \times x$$

#### (4) 按照液体体积计算

$$\text{LA 含量} (\mu\text{mol}/\text{mL}) = x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提取液二}}) \div [V_{\text{液体}} \times V_{\text{上清}} \div (V_{\text{提取液一}} + V_{\text{液体}})] = 13.0625 \times x$$

V 样本：加入的样本体积，0.05mL；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL，蛋白浓度需自行测定；V 上清：提取时上清液体积，0.8mL；V 提取液二：加入的提取液二体积，0.15mL；V 提取液一：加入的提取液一体积，1mL；5：细胞数量，5×10<sup>6</sup>个；V 液体：液体样本体积，0.1mL。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

#### 注意事项:

如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。

#### 实验实例:

1. 取 0.1g 兔心加入 1mL 提取液一进行匀浆研磨离心，取 0.8mL 上清后加 0.15mL 提取液二，离心取上清后稀释 5 倍，之后按照测定步骤操作，测得计算 $\Delta A$  测定管=A 测定-A 对照=1.137-0.125=1.012，根据标准曲线 $y=0.7826x+0.0215$ ，计算  $x=1.266$ ，按样本质量计算含量得：

LA 含量 ( $\mu\text{mol/g}$  质量) =  $1.1875 \times x \div W \times \text{稀释倍数} = 1.1875 \times 1.266 \div 0.1 \times 5 = 75.17 \mu\text{mol/g}$  质量。

2. 取 100 $\mu\text{L}$  小鼠血清加入 1mL 提取液一，取 0.8mL 上清后加 0.15mL 提取液二，离心取上清，之后按照测定步骤操作，测得计算 $\Delta A$  测定管=A 测定-A 对照=1.152-0.407=0.745，根据标准曲线 $y=0.7826x+0.0215$ ， $x=0.924$ ，按照液体体积计算含量得：

LA 含量 ( $\mu\text{mol/mL}$ ) =  $13.0625 \times x = 13.0625 \times 0.924 = 12.07 \mu\text{mol/mL}$

#### 相关发表文献:

- [1] Meixi Peng, Dan Yang, Yixuan Hou, et al. Intracellular citrate accumulation by oxidized ATM-mediated metabolism reprogramming via PFKP and CS enhances hypoxic breast cancer cell invasion and metastasis. *Cell Death and Disease*. March 2019; (IF5.959)
- [2] Xiaojin Luo, Weihua Shi, Haoming Yu, et al. Wearable Carbon Nanotube-Based BioSensors on Gloves for Lactate. *Sensors*. October 2018; (IF3.031)
- [3] Zhou F, Du J, Wang J. Albendazole inhibits HIF-1 $\alpha$ -dependent glycolysis and VEGF expression in non-small cell lung cancer cells[J]. *Molecular and cellular biochemistry*, 2017, 428(1-2): 171-178.

#### 参考文献:

Eolbergrová J, MacMillan V, Siesjö B K. The effect of moderate and marked hypercapnia upon the energy state and upon the cytoplasmic NADH/NAD<sup>+</sup> ratio of the rat brain[J]. *Journal of neurochemistry*, 1972, 19(11): 2497-2505.



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com