

丙酮酸检测试剂盒（乳酸脱氢酶比色法）

产品货号：BA1563

产品规格：60T

产品简介：

丙酮酸(Pyruvic acid)又称2-氧代丙酸，是参与整个生物体基本代谢的中间产物之一，可通过乙酰CoA和三羧酸循环实现体内糖、脂肪和氨基酸间的互相转化，丙酮酸在三大营养物质的代谢联系中起着重要的枢纽作用。丙酮酸是糖无氧代谢的产物，科研工作者常将丙酮酸和乳酸一起研究，并用二者的比值推算循环衰竭的程度。丙酮酸检测可采用酶催化法，该法是使用乳酸脱氢酶(LDH)催化丙酮酸氧化，生成乳酸和NAD⁺，通过分光光度法或荧光光度法测定NADH的减少量，进而计算出丙酮酸含量。

丙酮酸检测试剂盒(乳酸脱氢酶比色法)其检测原理是在NADH存在条件下，乳酸脱氢酶(LDH)催化丙酮酸生成乳酸，同时生成NAD⁺的方向，在中性条件下平衡偏向丙酮酸氧化为乳酸的方向，驱动反应完成。通过分光光度比色法(自动分析仪或分光光度计)测定340nm处吸光度的下降速率，据此通过比色分析就可以计算出PA水平。该试剂盒可用于检测细胞或组织的裂解液或匀浆液、血浆、血清等样品中内源性的丙酮酸含量。该试剂盒仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成

名称		60T	保存条件
试剂(A): 丙酮酸标准(25mmol/L)		1ml	4℃，避光
试剂(B): 丙酮酸标准稀释液		5ml	室温
试剂(C): PA 显色液	C1: PA Assay buffer	100ml	4℃
	C2: NADH	2支	-20℃，避光
临用前，按 C1:C2=50ml:1支的比例混合，即为PA显色液。			
试剂(D): LDH solution		0.42ml	-20℃，避光

自备材料：

1. 离心管或小试管
2. 蒸馏水
3. 水浴锅或恒温箱
4. 比色杯
5. 自动分析仪或分光光度计

操作步骤 (仅供参考)：

1. 准备样品：

- ①血浆、血清、尿液及其他体液样品：血浆、血清按照常规方法制备后可以直接用于本试剂盒的测定，尿液通常也可以直接用于测定，-20℃冻存。
- ②细胞或组织样品：取恰当细胞或组织裂解液，如果有必要需进行适当匀浆，低速离心取上清，-20℃冻存，用于PA的检测。
- ③高浓度样品：如果样品中含有较高浓度的PA，可以使用原有的裂解液或PBS等进行稀释，如鸡血清、血浆可稀释5~10倍后检测。



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

2. 配制标准品工作液：取丙酮酸标准(25mmol/L) 0.01ml溶解于0.49ml丙酮酸标准稀释液，使浓度达到0.5mmol/L，即为标准品工作液-丙酮酸标准(0.5mmol/L)。4℃避光保存24h有效。
3. 配制PA-LDH显色液(适用于自动分析仪)：取配制好的PA显色液10ml不LDH solution 0.04ml混匀，即为PA-LDH显色液。4℃避光保存24h有效。
4. 自动分析仪检测：如果样品中的PA浓度过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定。样品的检测最好能设置平行管。根据实验室的自动分析仪性能，设置参数，下列参数仅供参考：

温度	37℃
pH	7.4
波长	340nm
延迟时间	30s
检测时间	120s
待测样品/丙酮酸标准(0.5mmol/L)体积	25 μl
PA-LDH显色液	275 μl

分别检测待测样品管吸光度的下降速率 ($\Delta A_u / \text{min}$)和标准管吸光度的下降速率 ($\Delta A_s / \text{min}$)。

5. 手工比色检测：按照下表设置空白管、标准管、测定管，溶液应按照规定顺序依次加入，并注意避免产生气泡。如果样品中的PA浓度过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定。样品的检测最好能设置平行管。

加入物(μl)	空白管	标准管	测定管
蒸馏水	150	-	-
待测样品(血清、血浆、体液等)	-	-	150
丙酮酸标准(0.5mmol/L)	-	150	-
PA 显色液/ml	1.6	1.6	1.6
充分混匀，蒸馏水调零，于340nm处读取各管吸光度，分别为 $A_{\text{空白1}}$ 、 $A_{\text{标准1}}$ 、 $A_{\text{测定1}}$ 。			
LDH solution/ μl	6.6	6.6	6.6

充分混匀，分光光度计检测的340nm吸光度，比色杯光径1.0cm，室温孵育1min后再读取各管吸光度，此后每隔1min读1次吸光度，直至读数稳定，分别为 $A_{\text{空白2}}$ 、 $A_{\text{标准2}}$ 、 $A_{\text{测定2}}$ 。

计算：

自动分析仪计算公式：

血清、血浆、尿液、脑脊液丙酮酸(mmol/L) = $\{(\Delta A_u / \text{min}) / (\Delta A_s / \text{min})\} \times 0.5$

组织丙酮酸(mmol/g) = $\{(\Delta A_u / \text{min}) / (\Delta A_s / \text{min})\} \times \{0.5 / \text{待测样品蛋白浓度(g/L)}\}$

分光光度计比色计算公式：

丙酮酸(mmol/L) = $\{(\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) / (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}})\} \times 0.05$

也可根据NADH毫摩尔吸光度计算：

全血丙酮酸(mmol/L) = $(\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times (1.56 / 6.22)$

式中： $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定1}} - A_{\text{测定2}}$

$\Delta A_{\text{空白}} = A_{\text{空白1}} - A_{\text{空白2}}$

$\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准1}} - A_{\text{标准2}}$

2.33=反应液的总体积(ml)

6.22=NADH毫摩尔吸光度

换算公式：丙酮酸(mg/dl) = 丙酮酸(mmol/L) × 8.8



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

参考区间:

空腹静脉、动脉血 <0.1mmol/L

注意事项:

1. 本法适用于自动分析仪, 分别监测测定管和标准管的吸光度升高速率, 计算乳酸的浓度。如果采用自动分析仪, 该50T试剂盒可检测约300次。
2. 配制好的PA显色液, 4℃保存, 36h有效。配制好的PA-LDH显色液, 4℃保存, 24h有效。
3. 如果没有分光光度计, 也可以使用酶标仪测定。

有效期: 6个月有效。



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>