

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⁺还原生成NADH和H⁺,H⁺传递给PMS生成的PMSH₂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: 0.0387 μ mol/mL

线性范围: 0.039-1 μ mol/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60 μ L×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) =10 μ L: 450 μ L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100 μ mol/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)

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°C, 12000g离心10min, 取0.8mL上清液, 再加入0.15mL提取液二, 4°C12000g离心10min后取上清待测。
2. 细胞: 按照细胞数量 (10⁴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°C, 12000g离心10min, 取0.8mL上清液, 再加入0.15mL提取液二, 4°C12000g离心10min后取上清待测。
3. 血清 (浆): 取100 μ L血清 (浆) 加入1mL提取液一, 4°C, 12000g离心10min, 取0.8mL上清液, 再加入0.15mL



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

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100 $\mu\text{mol/mL}$ 的标准溶液用蒸馏水稀释为1、0.625、0.3125、0.15625、0.078、0.039 $\mu\text{mol/mL}$ 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°C 水浴准确反应 20min。				
试剂六 (μL)	30	30	30	30
显色液 (μL)	300	300	300	300
37°C 避光反应 20min 后于 25°C，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 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ； $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。				

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 ($\Delta A_{\text{标准}}$) 为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式中得到 x ($\mu\text{mol/mL}$)。

2. 乳酸含量计算

(1) 按照蛋白含量计算

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

(2) 按照样本质量计算

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

(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

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

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， 5×10^6 个；V 液体：液体样本体积，0.1mL。

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。



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