

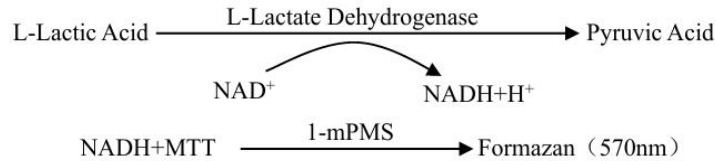
## L-乳酸 (L-LA) 含量检测试剂盒 (可见分光光度法)

产品货号: BA2076

产品规格: 50T/24S

### 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PMSH2还原MTT生成紫色物质, 在570nm处有特征吸收峰。



### 产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
提取液一	液体30mL×1瓶	2-8°C
提取液二	液体5mL×1瓶	2-8°C
试剂一	液体20mL×1瓶	2-8°C
试剂二	液体60μL×1支	2-8°C
试剂三	液体24mL×1瓶	2-8°C
试剂四	粉剂×1瓶	-20°C
试剂五	液体5mL×1瓶	2-8°C
标准品	粉剂×1支	2-8°C

### 溶液的配制:

1. 试剂二: 临用前先将液体甩离至管底部 (使用掌上离心机即可); 按试剂二 (V): 蒸馏水 (V) = 10μL: 450μL 的比例稀释试剂二用于下述操作表加样, 现用现配;
2. 试剂四: 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4周;
3. 标准品: 临用前加入1.04mL蒸馏水配成100μmol/mL的标准溶液; 2-8°C保存4周。

### 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。

### 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、恒温水浴锅或者恒温培养箱、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 (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



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

一，冰浴匀浆后于 4°C，12000g 离心 10min，取 0.8mL 上清液，再缓慢加入 0.15mL 提取液二，缓慢吹打混匀至无气泡产生，4°C 12000g 离心 10min 后取上清待测。

2. 细胞：按照细胞数量（ $10^6$  个）：提取液一（mL）为 5~10: 1 的比例（建议  $5 \times 10^6$  个细胞加入 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，再缓慢加入 0.15mL 提取液二，缓慢吹打混匀至无气泡产生，4°C 12000g 离心 10min 后取上清待测。
3. 血清（浆）等液体：取 100 $\mu$ L 液体加入 1mL 提取液一，4°C 12000g 离心 10min，取 0.8mL 上清液，再缓慢加入 0.15mL 提取液二，缓慢吹打混匀至无气泡产生，12000g 离心 10min 后取上清待测。

**注：提取液二需缓慢加入，加入后会产生大量气泡，建议使用 2mL EP 管进行操作。**

## 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 $\mu$ 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 $\mu$ mol/mL 的标准溶液待测。
3. 标准品稀释表：

序号	稀释前浓度( $\mu$ mol/mL)	标准液体积 ( $\mu$ L)	蒸馏水体积 ( $\mu$ L)	稀释后浓度 $\mu$ mol/mL)
1	100	50	450	10
2	10	50	450	1
3	10	50	450	0.625
4	0.625	200	200	0.3125
5	0.3125	200	200	0.15625
6	0.15625	200	200	0.078
7	0.078	200	200	0.039

实验中每个标准管需 50 $\mu$ L 标准溶液。

4. 加样表：

试剂名称 ( $\mu$ L)	测定管	对照管	标准管	空白管
样本	50	50	-	-
标准品	-	-	50	-
蒸馏水	-	50	-	50
试剂一	200	200	200	200
试剂二	50	-	50	50
试剂四	100	100	100	100
在 EP 管中充分混匀，于 37°C 水浴准确反应 20min。				
试剂五	30	30	30	30
试剂三	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	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 $\Delta A$ 测定=A 测定管-A 对照管； $\Delta A$ 标准=A 标准管-A 空白管。（标曲和空白管只需做 1-2 次）				

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

2. 乳酸含量计算



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) 按照样本蛋白浓度计算

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

(2) 按照样本质量计算

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

(3) 按照细胞数量计算

$$\text{L-LA 含量 } (\mu\text{mol}/10^6 \text{ cell}) = x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提取液二}}) \div (N \times V_{\text{上清}} \div V_{\text{提取液一}}) = 1.1875 \times x \div N$$

(4) 按照液体体积计算

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

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：加入提取液二的体积，0.15mL；V 提取液一：加入的提取液一体积，1mL；N：细胞数量，以百万计；V 液体：液体样本体积，0.1mL。

#### 注意事项：

1. 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。
2. 提取液一中含有蛋白质沉淀剂，因此上清液不能用于蛋白浓度测定。如需测定蛋白含量，需另取样本。



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>