

丙酮酸检测试剂盒（乳酸脱氢酶微板法）

产品货号：BA1564

产品规格：120T

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(乳酸脱氢酶微板法)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^+ 。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(酶标仪)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		120T	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		1ml	室温
试剂(C): PA 显色液	C1: PA Assay buffer	25ml	4℃
	C2: NADH	2支	-20℃，避光
临用前，按C1:C2=12.5ml: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. 96孔板
5. 酶标仪或自动分析仪

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。

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



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

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 0.12ml混匀, 即为PA-LDH显色液。4℃避光保存24h有效。
4. 酶标仪比色检测: 按照下表设置空白孔、标准孔、测定孔, 溶液应按照顺序依次加入, 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孔。

加入物(μl)	空白孔	标准孔	测定孔
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 _{空白1} 、A _{标准1} 、A _{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_{空白2}、A_{标准2}、A_{测定2}。

5. 自动分析仪检测: 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, 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($\Delta A_s / \text{min}$)。

计算:

分光光度计比色计算公式:

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

也可根据NADH毫摩尔吸光度计算:

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

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

自动分析仪计算公式:

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

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

参考区间:

空腹静脉、动脉血 <0.1mmol/L



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

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120T试剂盒可检测约100次。
2. 如果没有分光光度计，也可以使用酶标仪测定。
3. 抗凝剂用肝素钠-氟化钠较好。抗凝血样品置于冰浴中送检，尽快分离出血浆等。
4. 草酸抗凝剂对LDH有一定的抑制作用。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：6个月有效。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com