

## 全血丙酮酸检测试剂盒（酶微板法）

产品货号：BA1693

产品规格：50T

### 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 $\text{NAD}^+$ ，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。

全血丙酮酸检测试剂盒(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 $\text{NAD}^+$ 。在弱碱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(酶标仪或自动分析仪)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全血血浆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：

试剂名称	规格	保存条件
试剂(A): 丙酮酸标准(100mmol/L)	1ml	4℃避光
试剂(B): 蛋白沉淀剂	3瓶	RT避光
试剂(C):C1: NADH	2支	-20℃避光
NADH solution C2: NADH buffer	3ml	RT
C3: PA Assay buffer	10ml	RT
按C1:C2=1支:1.5ml的比例充分混合，即为C1C2液，4℃避光保存48h有效。临用前，按C1C2液：PA Assay buffer=3：50的比例混合，即为NADH solution，即配即用。		
试剂(D): LDH solution	0.3ml	-20℃避光

### 需自备的仪器和用品：

离心管或小试管、蒸馏水、比色杯、分光光度计或自动分析仪

### 操作步骤(仅供参考)：

1. 配制蛋白沉淀工作液：取1瓶蛋白沉淀剂，直接加入蒸馏水至100ml，充分混匀，即为蛋白沉淀工作液。4℃避光保存，1周有效。该试剂有一定腐蚀性，请小心操作。
2. 配制空白对照液：取配制好的蛋白沉淀工作液1ml加入0.67ml蒸馏水，混匀，即为空白对照液。4℃避光保存，1周有效。
3. 配制标准品工作液：取适量的丙酮酸标准(100mmol/L)，按0.01ml溶解于19.9ml空白对照液的比例稀释标准品，使浓度达到0.05mmol/L，即为标准品工作液-丙酮酸标准(0.05mmol/L)。4℃避光保存24h有效。
4. 制备无蛋白上清液：抽血前，取试管或离心管，分别称重( $W_i$ )并记录，加入6ml蛋白沉淀工作液，再次分别称重( $W_m$ )并记录，冰浴或4℃保存备用。在空腹和休息状态下抽血，不用止血带，不可用力握拳，如果使用止血带，应在穿刺后除去止血带至少等待2min后再抽血。最好用肝素化的注射器抽血，抽取血液后立即注入预先称量的含有蛋白沉淀工作液(预冷至4℃)的试管或离心管中，每管2ml。(如果用血浆测定，每毫升血中用10mg氟化钠和2mg草酸钾抗凝，立即冷却样本，在15min内离心。)颠倒混匀3次，不可产生气泡。待试管或离心管的温度与室温一致时，再称重( $W_b$ )并记录。静置20min以上，4000g离心15min，取上清液(即无蛋白上清液)待用。上清液应澄清，如果浑浊，转移上清液至一干净试管或离心管后，再次离心。



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

5. 加样：按照下表设置空白管、标准管、测定管，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管。

加入物(ml)	空白管	标准管	测定管
空白对照液	167	-	-
丙酮酸标准(1mmol/L)	-	167	-
无蛋白上清液	-	-	167
NADH solution	89	89	89
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	5	5	5

6. PA 检测：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 2min 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：

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

也可根据 NADH 毫摩尔吸光度计算：

$$\text{全血丙酮酸}(\text{mmol/L}) = (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times (1.56/6.22) \times (D/1.0)$$

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

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

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

$$D = (W_b - W_t) / (W_b - W_m)$$

2.33=反应液的总体积(ml)

6.22=NADH 毫摩尔吸光度

1.0=无蛋白上清液体积(ml)

换算公式：丙酮酸(mg/dl)=丙酮酸(mmol/L)×8.8

#### 参考区间：

空腹静脉血 0.03~0.1mmol/L

#### 注意事项：

1. 配制好的 NADH solution，4℃ 保存，24 有效。
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