

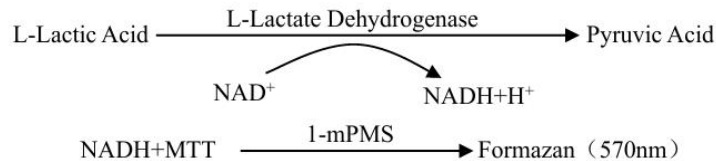
L-乳酸 (L-LA) 含量检测试剂盒 (微量法)

产品货号: BA2077

产品规格: 100T/48S

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。



产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
提取液一	液体60mL×1瓶	2-8°C
提取液二	液体10mL×1瓶	2-8°C
试剂一	液体6mL×1瓶	2-8°C
试剂二	液体20μL×1支	2-8°C
试剂三	液体8mL×1瓶	2-8°C
试剂四	粉剂×1瓶	-20°C
试剂五	液体2mL×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3mL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: 0.0771μmol/mL

线性范围: 0.078-5μmol/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/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、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



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

提取液一，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）：提取液一体积（mL）为 5~10: 1 的比例（建议 5×10^6 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 μ 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/酶标仪预热 30min 以上，波长调至 570nm，分光光度计用乙醇调零。
2. 标准液的稀释：将 100 μ mol/mL 的标准溶液用蒸馏水稀释为 2.5、1.25、0.625、0.3125、0.15625、0.078 μ mol/mL 的标准溶液待测。
3. 标准品稀释表：

序号	稀释前浓度(μ mol/mL)	标准液体积 (μ L)	蒸馏水体积 (μ L)	稀释后浓度 μ mol/mL)
1	100	50	450	10
2	10	100	300	2.5
3	2.5	200	200	1.25
4	1.25	200	200	0.625
5	0.625	200	200	0.3125
6	0.3125	200	200	0.15625
7	0.15625	200	200	0.078

实验中每个标准管需 10 μ L 标准溶液。

4. 加样表：

试剂名称 (μ L)	测定管	对照管	标准管	空白管
样本	10	10	-	-
标准品	-	-	10	-
蒸馏水	-	10	-	10
试剂一	40	40	40	40
试剂二	10	-	10	10
试剂四	20	20	20	20
在 EP 管中充分混匀，于 37°C 水浴准确反应 20min。				
试剂五	6	6	6	6
试剂三	60	60	60	60
37°C 避光反应 20min 后于 25°C，10000rpm 离心 10min，去上清，留沉淀。				
乙醇	200	200	200	200
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 ΔA 测定=A 测定管-A 对照管； ΔA 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（ ΔA 标准）为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入公式中得到 x（ μ mol/mL）。

2. 乳酸含量计算



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

(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, 0.01mL; 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

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