

丙酮酸(PA) 含量检测试剂盒 (分光光度计法)
(本试剂盒仅供科研使用)**产品包装**

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0384	丙酮酸 (PA) 含量检测试剂盒	50 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 50mL × 1 瓶	4℃
试剂一	液体 9mL × 1 瓶	4℃
试剂二	液体 50mL × 1 瓶	4℃
丙酮酸钠标准液	液体 1mL × 1 瓶, 1mg/mL。	4℃

一、产品说明

丙酮酸通过乙酰 CoA 连接葡萄糖、脂肪酸和氨基酸三大代谢, 起着重要枢纽作用。
丙酮酸与 2,4-二硝基苯肼作用, 生成丙酮酸-2,4-二硝基苯腙, 在碱性溶液中呈樱红色。

二、自备材料

可见分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰、蒸馏水。

三、样本准备

- 1、组织: 按照组织质量 (g): 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液), 进行冰浴匀浆, 静置 30min, 8000g, 常温离心 10min, 取上清待测。
- 2、细菌或培养细胞: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照细菌或细胞数量 (10^4 个): 提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液), 超声波破碎 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次), 静置 30min, 8000g, 常温离心 10min, 取上清待测。
- 3、血清 (浆) 样品: 按照血清 (浆) 体积 (mL): 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议取 0.1mL 血清 (浆) 加入 1mL 提取液), 进行冰浴匀浆, 静置 30min, 8000g, 常温离心 10min, 取上清待测。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、分光光度计预热 30min 以上, 调解波长至 520nm, 蒸馏水调零。
- 2、标准品的准备: 将标准品用蒸馏水稀释至 100、50、25、12.5、6.25、3.125、1.5625、0g/mL。
- 3、取 300μL 标准品或样本+100μL 试剂一于 1.5mL EP 管中, 混匀, 静置 2min, 加入 500μL 试剂二, 混匀, 于 520nm 波长处测定吸光值 A。

五、含量的计算

1、按照样本蛋白浓度计算:

丙酮酸含量 ($\mu\text{g}/\text{mg prot}$) = $(y \times V1) \div (V1 \times \text{Cpr}) = y \div \text{Cpr}$ 。

蛋白质含量需要另外测定。

2、按照样本鲜重计算:

丙酮酸含量 ($\mu\text{g}/\text{g 鲜重}$) = $(y \times V1) \div (W \times V1 \div V2) = y \div W$ 。

3、按照细胞/细菌数量计算

丙酮酸含量 ($\mu\text{g}/10^4 \text{ ceLL}$) = $(y \times V1) \div (500 \times V1 \div V2) = y \div 500$ 。

4、按照血清体积计算

丙酮酸含量 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) = $(y \times V1) \div (V3 \times V1 \div V2) = y \times 10$ 。

V1: 加入反应体系中样本体积, 0.3mL; V2: 加入提取液体积, 1 mL; V3: 加入血清 (浆) 体积, 0.1 mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g;
500: 细菌或细胞总数, 500 万。