

乳酸 (Lactic Acid, LA) 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
YFX0389	乳酸 (Lactic Acid) 含量检测试剂盒	50 管/24 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 30mL × 1 瓶	4℃
试剂一	液体 50mL × 1 瓶	4℃
试剂二	粉剂 × 1 瓶: 临用前加入 1.6mL 试剂一充分溶解。可分装后-20℃保存, 避免反复冻融。	-20℃
试剂三	粉剂 × 1 瓶: 临用前加入 16mL 试剂一充分溶解。可分装后-20℃保存, 避免反复冻融。	-20℃
试剂四	粉剂 × 1 瓶: 临用前加入 16mL 试剂一充分溶解。可分装后-20℃保存, 避免反复冻融。	-20℃
试剂五	液体 8mL × 1 瓶	4℃
标准品	粉剂 × 1 瓶: 临用前加入 1.04mL 提取液配成 100μmol/mL 的标准溶液。	4℃
工作液配置: 临用前根据用量按照试剂三 (V) : 试剂四 (V) : 试剂五 (V) =1: 1: 0.5 的比例充分混匀, 现配现用。		

一、产品说明

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 还原特异性底物, 在 450nm 处有特征吸收峰。

二、自备材料

天平、研钵/匀浆器、离心机、可见分光光度计、微量玻璃比色皿、恒温水浴锅、乙醇和蒸馏水。

三、样品准备

- 1、组织: 按照质量 (g) : 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g, 加入 1mL 提取液) 加入提取液, 冰浴匀浆后于 4℃, 12000g 离心 10min, 取上清测定。
- 2、细胞: 按照细胞数量(10⁴个): 提取液体积(mL) 为 500~1000: 1 的比例(建议 500 万细胞加入 1mL 提取液), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 4℃, 12000g 离心 10min, 取上清测定。
- 3、血清/血浆: 取 100μL 血清 (浆) 加入 0.9mL 提取液, 4℃ 12000g 离心 10min 后取上清待测。

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, 调节波长至 450nm, 蒸馏水调零。
- 2、标准液的稀释: 将 100 μ mol/mL 的标准溶液用蒸馏水稀释为 10、5、2.5、1.25、0.625、0.3125、0 μ mol/mL 的标准溶液待测。
- 3、操作表:

试剂名称 (μ L)	测定管	对照管	标准管	空白管
样品	50	50		
标准品			50	
蒸馏水		50		50
试剂一	200	200	200	200
试剂二	50		50	50
工作液	700	700	700	700

充分混匀, 于 37 $^{\circ}$ C 准确反应 30min。于 450nm 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。

五、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、按照样本蛋白浓度计算:

LA 含量 (μ mol/mg prot) = $x \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div C_{\text{pr}} = x \div C_{\text{pr}}$ 。

- 3、按照样本鲜重计算:

LA 含量 (μ mol/g 鲜重) = $x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) = x \div W$ 。

- 4、按照细胞数量计算:

LA 含量 (μ mol/ 10^6 ceLL) = $x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) = x \div \text{细胞数量}$ 。

- 5、按照液体体积计算:

LA 含量 (μ mol/mL) = $10 \times x$ 。

V 样品: 加入的样品体积, 0.05mL。; W: 样本质量, g/mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL, 蛋白浓度需自行测定; V 提取液: 加入的提取液体积, 1mL; 细胞数量, 5×10^6 个。

六、注意事项

- 1、若测定吸光值 ΔA 大于最大浓度标准品 OD 值, 请将样品体积进行适当的稀释后再进行测定, 并在计算公式中乘以稀释倍数。