

Lactic Acid Content Assay Kit

乳酸(LA)含量测定试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL868B	乳酸(LA)含量测定试剂盒 微板法	96T

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和有氧代谢的重要指标。乳酸含量的异常升高与多种疾病如糖尿病和酸毒症等疾病有密切关系。

本试剂盒提供一种快速、灵敏的检测方法：乳酸在乳酸脱氢酶的作用下生成丙酮酸，并使 NAD⁺还原生成 NADH，为了使该反应顺利进行另添加酶进一步分解丙酮酸。生成的 NADH 与特异显色剂反应，产生在 450nm 处有最大吸收峰的有色物质，通过检测该物质在 450nm 的增加量，进而计算出乳酸含量。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 120mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	液体 2mL×1 支	4°C保存	
试剂二	液体 1mL×1 支	4°C保存	
试剂三	液体 20mL×1 瓶	4°C保存	
试剂四	液体 1mL×1 支	4°C保存	
试剂五	液体×2 支	-20°C保存	临用前甩几下使试剂落入底部，每支加 0.55mL 蒸馏水溶解。
标准品	液体×1 支	4°C保存	若重新做标曲，则用到该试剂。

使用方法:

建议正式实验前，选取 2 个样本做预测定，了解实验样品情况，熟悉流程，避免样本和试剂浪费！

一、样本准备:

1. 组织样本:

- 称取约 0.1g 组织样本，加 1mL 的提取液研磨，粗提液全部转移到离心管中；
- 12000rpm，离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量 (g)：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例提取。

2. 细菌/细胞样本:

- 收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；
- 取约 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 提取液，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20% 或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；
- 12000rpm，4°C 离心 10min，取上清测定。

【注】：若增加样本量，可按每 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 个细菌/细胞数量加入 1mL 提取液的比例进行提取。

3. 液体样本:

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



- 近似中性的液体样品可直接取 1mL 转移到离心管中；12000rpm，离心 10min，上清液待测。
- 酸性液体样本（如葡萄酒或果汁），则需先用 KOH（5M）调溶液 PH 值至约 8，并在室温下孵育 30 分钟。取 1mL 转移到离心管中；12000rpm，离心 10min，上清液待测。
- 血清样本：澄清的血清样本可以直接检测

二、样品测定：

- 酶标仪预热 30min，设定波长到 450nm。
- 临用前试剂一、二、三、四可按照比例 20:10:130:10 混成混合液（用多少配多少量），下步加样表中直接加 170 μ L 混合液。
- 在 96 孔板中依次加入：

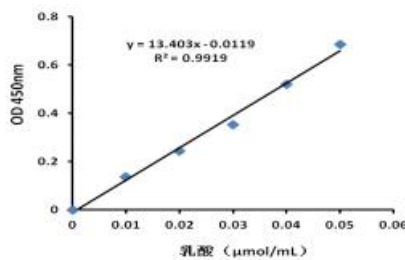
试剂名称（ μ L）	测定管	空白管（只做一次）
样本	20	-
试剂一	20	20
试剂二	10	10
试剂三	130	150
试剂四	10	10
试剂五	10	10

混匀，立即于 37°C 条件下避光反应 30min，于 450nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。（每个样本做一个自身对照）。

- 【注】
- 若样本自身有很强的背景值（如颜色很深或含有还原性物质如抗坏血酸等），可以加设一个样本自身对照：即试剂五用蒸馏水替代，其他试剂保持不变，则 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。
 - 若 ΔA 值较小，可增加样本上样量 V1（如增至 40 μ L，则试剂三相应减少），则改变后的 V1 需代入计算公式重新计算。
 - 若 ΔA 值较大，或 A 测定超过了 1.5，可对样本用蒸馏水稀释；或减少样本上样量 V1（如减至 10 μ L，则试剂三相应增加），则稀释倍数 D 和改变后的 V1 需代入公式重新计算。

三、结果计算

- 标准曲线方程： $y = 13.403x - 0.0119$ ；x 为标准品摩尔浓度（ $\mu\text{mol/mL}$ ），y 为 ΔA 。



- 按照样本质量计算：

$$\begin{aligned} \text{乳酸含量}(\mu\text{mol/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0119) \div 13.403 \times V2] \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 0.75 \times (\Delta A + 0.0119) \div W \times D \end{aligned}$$

- 按照细菌/细胞计算：

$$\begin{aligned} \text{乳酸含量}(\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A + 0.0119) \div 13.403 \times V2] \div (500 \times V1 \div V) \times D \\ &= 0.0015 \times (\Delta A + 0.0119) \times D \end{aligned}$$

- 按照液体体积计算：

$$\text{乳酸含量}(\mu\text{mol/mL}) = [(\Delta A + 0.0119) \div 13.403 \times V2] \div V1 \times D$$

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



$$=0.75\times(\Delta A+0.0119)\times D$$

5. 按照血清体积计算:

$$\begin{aligned} \text{乳酸含量}(\mu\text{mol/mL}) &= [(\Delta A+0.0119)\div 13.403\times V2]\div V1\times D \\ &= 0.75\times(\Delta A+0.0119)\times D \end{aligned}$$

V---加入提取液体积, 1 mL

V2---反应体系总体积, 0.2mL

W---样品质量, g

乳酸分子量 Mr---90.08

V1---加入反应体系中样本体积, 0.02mL

500---细胞数目, 万

D---稀释倍数, 未稀释即为 1

附: 标准曲线制作过程:

- 1 标准品母液 (30 $\mu\text{mol/mL}$): 临用前取 1mL 蒸馏水至 2mL 离心管中, 再向 1mL 蒸馏水中加入 3 μL 的标准品, 混匀, 即得标准品母液浓度为 30 $\mu\text{mol/mL}$ 。
- 2 把母液稀释成六个浓度梯度的标准品: 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5. $\mu\text{mol/mL}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 依据测定管加样表操作, 根据结果即可制作标准曲线。

注意事项:

- 1、 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
- 2、 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:

-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存三个月。

