

## D-Lactic Acid (D-LA) Content Assay Kit

### D-乳酸(D-LA)含量测定试剂盒 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL1418A	D-乳酸(D-LA)含量测定试剂盒 分光法	48T

#### 产品简介:

本试剂盒提供一种快速、灵敏的检测方法: D-乳酸在 D-乳酸脱氢酶的作用下生成丙酮酸, 并使  $\text{NAD}^+$  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 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 D-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 60mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	粉末×1 支	4°C保存	用前甩几下或离心使试剂落入底部, 再加 2.1mL 试剂三溶解备用。
试剂二	液体 1.1mL×1 支	4°C保存	
试剂三	液体 30mL×1 支	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	用前甩几下或离心使试剂落入底部, 每支分别加 0.55mL 蒸馏水溶解备用。
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;
- 12,000rpm, 离心 10min, 取上清液备用。

【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. 细胞/细菌样本准备:

- 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清;
- 取约  $5 \times 10^6$  个细菌或细胞加入 1mL 提取液; 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次);
- 12000rpm 4°C离心 10min 后取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 按照每  $0.5 \sim 1 \times 10^7$  个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

###### 3. 液体样本: 直接测定。若浑浊, 离心后取上清检测。

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。



- (1) 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。
- (2) 酸性液体样本，则需先用 KOH (5M) 调溶液的 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。

4. 血清样本：澄清的血清样本可以直接检测。

## 二、样品测定：

1. 可见分光光度计预热 30min，调节波长到 450 nm，蒸馏水调零。
2. 所有试剂解冻至室温 (25°C) 或在水浴锅 (25°C) 中孵育 10min，在 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中依次加入：

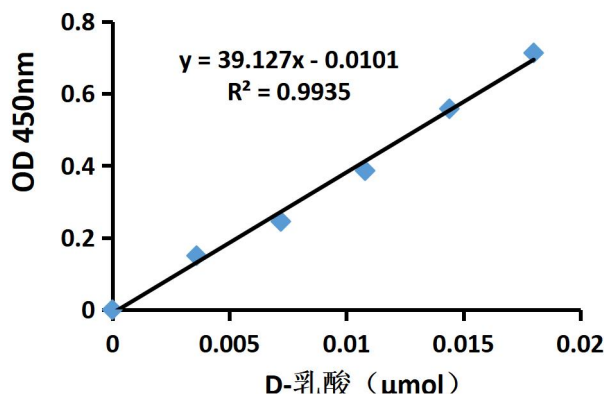
试剂名称 (μL)	测定管	空白对照(仅做一个)
样本	60	0
试剂一	40	40
试剂二	20	20
试剂三	540	600
试剂四	20	20
试剂五	20	20

混匀，立即于 37°C 条件下避光反应 30min，于 450nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。

- 【注】：**
1. 试剂一、二、三、四可按照比例 40:20:540:20 预先混成混合液 (用多少配多少量)，然后在加样表中直接加 620μL 混合液。
  2. 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  $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。
  3. 若  $\Delta A$  值较小，可增加样本上样量 V1 (如增至 100μL，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。
  4. 若  $\Delta A$  值较大，或 A 测定超过了标曲最高点，可对样本用蒸馏水稀释；或减少样本上样量 V1 (如减至 20μL，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

1. 标准曲线： $y = 39.127x - 0.0101$ ，x 为标准品摩尔质量 (μmol)，y 为  $\Delta A$ 。



2. 按照样本质量计算：

$$\begin{aligned} \text{D-乳酸含量}(\mu\text{mol/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0101) \div 39.127] \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 0.43 \times (\Delta A + 0.0101) \div W \times D \end{aligned}$$

3. 按照细菌/细胞计算：

$$\text{D-乳酸含量}(\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0101) \div 39.127] \div (500 \times V1 \div V) \times D$$

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。



$$=0.0009 \times (\Delta A + 0.0101) \times D$$

4. 按照液体体积计算:

$$D\text{-乳酸含量}(\mu\text{mol/mL}) = [(\Delta A + 0.0101) \div 39.127] \div V1 \times D = 0.43 \times (\Delta A + 0.0101) \times D$$

5. 按照血清体积计算:

$$D\text{-乳酸含量}(\mu\text{mol/mL}) = [(\Delta A + 0.0101) \div 39.127] \div V1 \times D = 0.43 \times (\Delta A + 0.0101) \times D$$

V---加入提取液体积, 1 mL

500---细胞数目, 万

D---稀释倍数, 未稀释即为 1

V1---加入样本体积, 0.06mL

W---样本质量, g

D-乳酸分子量 Mr---90.08

附: 标准曲线制作过程:

- 1 制备标准品母液 (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 $\mu\text{L}$  的标准品, 混匀, 即得标准品母液浓度为 30 $\mu\text{mol/mL}$ 。
- 2 把母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品: 0, 0.06, 0.12, 0.18, 0.24, 0.3.  $\mu\text{mol/mL}$ 。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。

