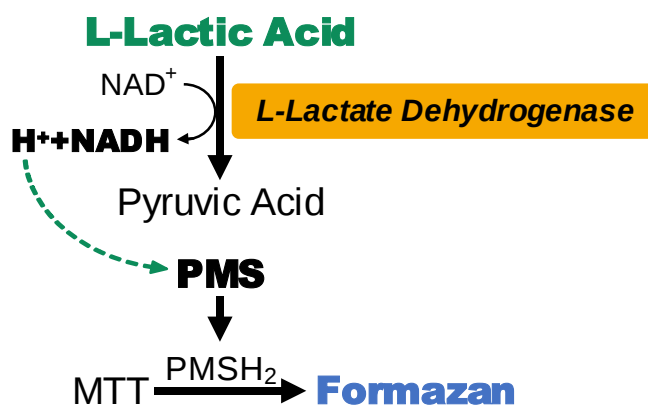




L-乳酸 (L-LA) 含量检测试剂盒
L-Lactic Acid (L-LA) Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



L-乳酸 (L-LA) 含量检测试剂盒

L-Lactic Acid (L-LA) Content Assay Kit

一、产品描述

乳酸是生物体代谢过程中重要的中间产物，既是糖酵解供能系统的终产物，又是有氧代谢供能系统的氧化基质，在机体能量代谢、氧化还原信号传导和脂质代谢等过程中具有重要作用，其含量可作为评估有氧代谢和糖原代谢的重要指标，并且在医药、农业、工业和食品科学等领域具有广泛应用。

L-乳酸脱氢酶 (L-LDH) 能够催化 L-乳酸生成丙酮酸，同时使 NAD^+ 还原生成 NADH 和 H^+ ，进一步通过 PMS 的递氢作用，还原氧化型噻唑蓝 (MTT) 生成甲瓖，产物在 570 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测 L-乳酸的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液 A	液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	-
提取液 B	液体 10 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 6 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 40 μL ×1 瓶	4°C 保存	使用前按试剂二: H_2O = 1:45 的体积比配制 (根据使用量现用现配, 充分混匀后使用)
试剂三	粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前加入 3 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后 -20°C 可保存一周, 避免反复冻融)
试剂四	液体 2 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂五	粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前加入 5 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后 -20°C 可保存一周, 避免反复冻融)
试剂六	粉剂×1 瓶	4°C 保存	使用前加入 5 mL 蒸馏水充分溶解 (4°C 可保存一周)
试剂七	液体 30 mL×1 瓶	4°C 保存	-
标准品	粉剂×1 支	4°C 保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (即为 100 $\mu\text{mol/mL}$ L-乳酸标准液)
标准稀释液的制备: 将 100 $\mu\text{mol/mL}$ L-乳酸标准液使用蒸馏水稀释至 2.5、2.0、1.6、0.8、0.4、0.2 $\mu\text{mol/mL}$ 即为标准稀释液。			

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、台式离心机、可调式移液器、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 样本处理（可根据预实验结果适当调整样品量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液 A 体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液 A）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 12000 g 离心 10 min，吸取 800 μL 上清液至离心管中，加入 150 μL 提取液 B 充分混匀，4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量（10⁴ 个）：提取液 A 体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液 A）处理样品，冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4℃ 12000 g 离心 10 min，吸取 800 μL 上清液至离心管中，加入 150 μL 提取液 B 充分混匀，4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：吸取 100 μL 液体样本加入 1 mL 提取液 A，4℃ 12000 g 离心 10 min，吸取 800 μL 上清液至离心管中，加入 150 μL 提取液 B 充分混匀，4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

2. 测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 570 nm，试剂七调零。

②**标准稀释液的制备：**将 100 μmol/mL L-乳酸标准液使用蒸馏水稀释至 2.5、2.0、1.6、0.8、0.4、0.2 μmol/mL 即为标准稀释液。

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度（μmol/mL）	100	10	10	10	1.6	0.8	0.4
标准液体积（μL）	100	100	100	80	200	200	200
蒸馏水体积（μL）	900	300	400	420	200	200	200
稀释后浓度（μmol/mL）	10	2.5	2.0	1.6	0.8	0.4	0.2

③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
待测样本	10	10	-	-
标准稀释液	-	-	10	-
蒸馏水	-	10	-	10
试剂一	40	40	40	40
试剂二	10	-	10	10
试剂三	20	20	20	20
充分混匀，37°C准确反应 20 min				
试剂四	10	10	10	10
试剂五	30	30	30	30
试剂六	30	30	30	30
37°C避光反应 20 min				
15000 g 常温离心 10 min，去上清，留沉淀				
试剂七	200	200	200	200
充分振荡混匀，使沉淀完全溶解				

吸光值测定：将反应液置于 96 孔板或微量玻璃比色皿中，测定 570 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：空白管只需测定 1-2 次，每个样品均需设一个对照管。

标准曲线的建立：以 2.5、2.0、1.6、0.8、0.4、0.2 $\mu\text{mol/mL}$ 为横坐标 (x)，以其对应的 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式中得到 x ($\mu\text{mol/mL}$)。

3.L-乳酸 (L-LA) 含量计算

①按组织蛋白含量计算

$$\text{L-乳酸含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = \frac{x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提 B}}) \times V_{\text{提 A}}}{C_{\text{pr}} \times W \times V_{\text{上清}}} = \frac{1.1875 \times x}{C_{\text{pr}} \times W}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{L-乳酸含量 } (\mu\text{mol/g}) = \frac{x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提 B}}) \times V_{\text{提 A}}}{W \times V_{\text{上清}}} = \frac{1.1875 \times x}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{L-乳酸含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = \frac{x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提 B}}) \times V_{\text{提 A}}}{\text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{上清}}} = \frac{1.1875 \times x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{L-乳酸含量 } (\mu\text{mol}/\text{mL}) = \frac{x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提 B}}) \times (V_{\text{液}} + V_{\text{提 A}})}{V_{\text{液}} \times V_{\text{上清}}} = 13.0625 \times x$$

注释： V 样：反应体系中加入待测样本的体积，0.01 mL；V 提 A：提取过程中加入提取液 A 的体积，1 mL；V 上清：提取过程中上清液的体积，0.8 mL；V 提 B：提取过程中加入提取液 B 的体积，0.15 mL；V 液：提取过程中加入液体样本的体积，0.1 mL；W：样本质量，g；Cpr：组织样本蛋白含量，mg/g；细菌或细胞数量：以万计。

四、注意事项

- ①若测定吸光值超出标准线性吸光值范围：高于最高值建议将待测样本适当稀释后再进行测定；低于最低值建议适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；
- ②待测样本不能用于蛋白含量的测定，需使用 PBS 重新制备样本后再进行测定；
- ③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

Notes:

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

