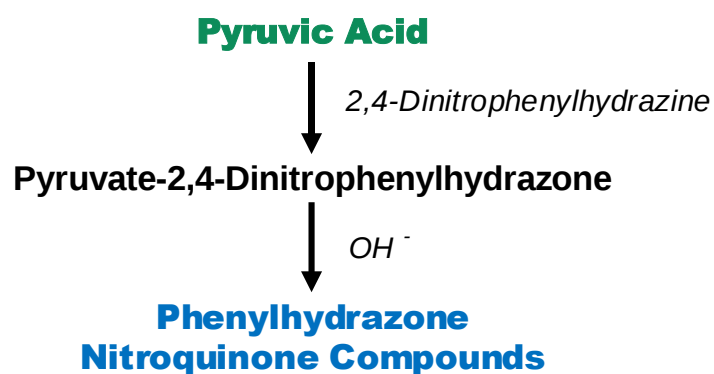




丙酮酸 (PA) 含量检测试剂盒

Pyruvic Acid (PA) Content Assay Kit



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



丙酮酸（PA）含量检测试剂盒

Pyruvic Acid (PA) Content Assay Kit

一、产品描述

丙酮酸（PA）是生物代谢及物质转化过程中重要的中间体，可通过乙醛 CoA 和三羧酸循环实现体内糖、脂肪和氨基酸之间的相互转化，在营养物质代谢过程中起着重要的枢纽作用。丙酮酸分子中同时具有羰基和羧基两个官能团，除具有羧酸和酮的性质外，还具有 α -酮酸的特性，作为一种基本化工原料在化学、制药、食品、农业及环保等领域具有广泛应用。

丙酮酸能够与 2,4-二硝基苯肼反应生成丙酮酸-2,4-二硝基苯腙，在碱性溶液中进一步被氧化为棕色物质，产物在 520 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测丙酮酸的含量。

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	液体 60 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂一	液体 8 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂二	液体 35 mL×1 瓶	4°C保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C避光保存	10 μ mol/mL 丙酮酸钠标准液
标准稀释液的制备：将 10 μ mol/mL 丙酮酸钠标准液使用蒸馏水稀释至 0.3、0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125 μ mol/mL 即为标准稀释液。			

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (μ mol/mL)	10	1.0	1.0	0.2	0.1	0.05	0.025
标准液体积 (μ L)	100	300	200	500	500	500	500
蒸馏水体积 (μ L)	900	700	800	500	500	500	500
稀释后浓度 (μ mol/mL)	1.0	0.3	0.2	0.1	0.05	0.025	0.0125

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、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机和蒸馏水。

1. 样本处理（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，室温静置 30 min，8000 g 常温离心 10 min，取上清待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞到离心管内，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 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 20%，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），室温静置 30 min，8000 g 常温离心 10 min，取上清待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：按照液体样本体积（mL）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议吸取 0.1 mL 液体样本加入 0.9 mL 提取液）处理样本，充分混匀，室温静置 30 min，8000 g 常温离心 10 min，取上清待测。

2. 测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 520 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μ L)	标准管 (μ L)	空白管 (μ L)
待测样本	300	-	-
标准稀释液	-	300	-
蒸馏水	-	-	300
试剂一	100	100	100
充分混匀，室温静置 2 min			
试剂二	500	500	500

吸光值测定：将反应液置于 1 mL 玻璃比色皿中，测定 520 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 标准和 A 空白，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 0.3、0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125 $\mu\text{mol/mL}$ 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.丙酮酸（PA）含量计算

①按组织蛋白浓度计算

$$\text{丙酮酸含量} (\mu\text{mol/mg prot}) = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{C_{\text{pr}} \times V_{\text{样总}}} = \frac{x}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{丙酮酸含量} (\mu\text{mol/g}) = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{W} = \frac{x}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{丙酮酸含量} (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{\text{细菌或细胞数量}} = \frac{x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{丙酮酸含量} (\mu\text{mol/mL}) = \frac{x \times (V_{\text{提}} + V_{\text{液}})}{V_{\text{液}}} = 10 \times x$$

注释：V 样总：待测样本总体积，1 mL；V 提：液体样本提取过程中加入提取液的体积，0.9 mL；

V 液：液体样本提取过程中加入液体样本的体积，0.1 mL；C_{pr}：待测样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量，以万计。

四、注意事项

①血液样本抗凝剂建议使用肝素钠-氟化钠，抗凝血样本应低温保存并尽快分离血浆；

②若测定吸光值超出标准吸光值线性范围：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；

③提取液中含有蛋白沉淀剂，若采用蛋白浓度方式计算，需使用 PBS 重新提取再测定蛋白浓度；

④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.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

