



乳酸含量检测试剂盒

LA Assay Kit

分光光度法

产品编号: AK413V

产品规格: 50T/48S

产品组成及保存条件

编号	规格	储存条件
AK413-A	60mL×1 瓶	4℃保存;
AK413-B	0.6mL×1 支	4℃保存;
酶工作液配制: 临用前将试剂B和试剂A按照1:100 的体积比进行混合, 现用现配, 4℃保存24小时内有效。		
AK413-C	6mL×2 支	4℃避光保存;
AK413-D	粉剂×2 瓶	短期(1 个月内)使用可放 4℃冰箱, 长期存放请置-20℃以下。(注:粉剂量较少, 可能附着于管壁或盖子上,并非空管,如使用时肉眼不可见,可将其 4000 转/分钟离心 2 分钟后使用);
AK413-E	60mL×2 瓶	4℃保存;
AK413-S	2mL×1 支	4℃保存;
显色液配制: 取 1 瓶试剂 C, 转移 1mL 进入一支试剂 D 粉剂中, 反复颠倒离心管混匀,待粉剂溶解后, 再用微量移液器将离心管中的液体转移到瓶中, 再从这瓶试剂 C 中移出 1mL 到原试剂 D 离心管中, 如此反复 2~3 次, 使二者充分混合溶解, 配成显色剂, 4℃避光保存 2 周内有效。		

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 乳酸(lactic acid, LA)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。

原理: 以 NAD^+ 为氢受体, LDH 催化乳酸(Lactic Acid)脱氢产生丙酮酸, 使 NAD^+ 转化成 NADH 。其中 PMS 递氢使 NBT 还原为紫色呈色物, 呈色物的吸光度在 530nm 时与乳酸含量成线性关系。

自备用品:

可见分光光度计、1cm 玻璃比色皿、天平、研钵、离心机、恒温水浴锅。

样本的前处理:

1. 组织: 组织样本准确称取组织重量, 按重量(g):体积(mL)=1:9 的比例加入 9 倍体积的生理盐水, 冰水浴条件下机械匀浆, 2500 转/分, 离心 10 分钟, 取上清液(10%匀浆上清液)进行测定。取 10%匀浆上清液用生理盐水稀释成不同浓度, 按操作表做预实验, 选择测定绝对 OD(测定 OD-空白 OD)在 0.05~0.35 之间的浓度为最佳取样浓度(如果测定绝对 OD 小于 0.05, 则需要加大样本浓度重新测定; 如果测定绝对 OD 大于 0.35, 则需要将样本稀释后重新测定)。
2. 血清(浆)培养液: 取血清(浆)、培养液用生理盐水稀释成不同浓度, 按操作表做预实验, 选择测定绝对 OD(测定 OD-空白 OD)在 0.05~0.35 之间的浓度为最佳取样浓度(如果测定绝对 OD 小于 0.05, 则需要加大样本浓度重新测定; 如果测定绝对 OD 大于 0.35, 则需要将样本稀释后重新测定)。

测定步骤:

1. 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 530nm。
2. 样本测定(在 EP 管中加入下列试剂):

试剂名称	空白管	标准管	测定管
蒸馏水 (mL)	0.02		
3mmol/L 标准品 (mL)		0.02	
样本 (mL)			0.02
酶工作液 (mL)	1	1	1
显色剂 (mL)	0.2	0.2	0.2
混匀, 37℃水浴准确反应 10 分钟			
终止液 (mL)	2	2	2
混匀, 吸取1ml到比色皿中, 测定波长 530 nm 处吸光值, 测各 管吸光值 A, 即为 A 空白、A 标准、A 测定; 计算 $\Delta A_{\text{样}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$, $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。			

注意: 标准管和空白管各只需测定 1-2 次

乳酸含量计算公式

- 按照蛋白含量计算

$$\text{LA 含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = \Delta A_{\text{样}} \div \Delta A_{\text{标}} \times C_{\text{标}} \div C_{\text{pr}} = 3 \times \Delta A_{\text{样}} \div \Delta A_{\text{标}} \div C_{\text{pr}}$$

- 按照液体体积计算

$$\text{LA 含量 } (\mu\text{mol/mL}) = \Delta A_{\text{样}} \div \Delta A_{\text{标}} \times C_{\text{标}} \times N = 3 \times \Delta A_{\text{样}} \div \Delta A_{\text{标}} \times N$$

注: C 标: 标准品浓度, 3mmol/L ; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; N: 样本测试前稀释倍数。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司: BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))

注意事项

- 血清、血浆、组织块置于冰箱-20℃冷冻, 可保存 1 个月左右; -70℃冷冻可保存 2~3 个月, 温度越低保存时间越长; 解冻后的样本或组织匀浆必须当天测定。
- 在批量实验前需要进行预实验, 以确定测定绝对 OD(测定 OD 值-空白 OD 值)在 0.05~0.35 之间。如果测定绝对 OD 小于 0.05, 则需要加大样本浓度重新测定; 如果测定绝对 OD 大于 0.35, 则需要将样本稀释后重新测定。