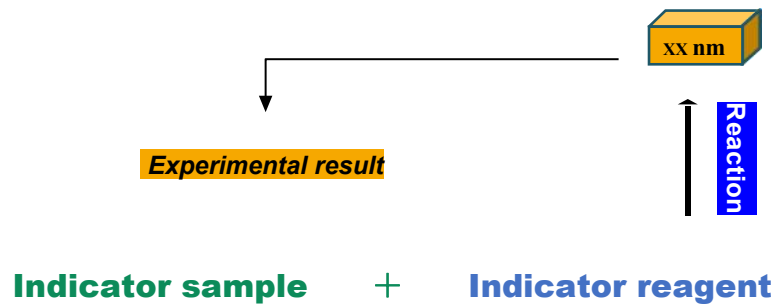


上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

## 乳酸 (LA) 含量检测试剂盒

### 微量法

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

产品内容：

| 种类   | 试剂规格      | 储存条件     | 使用方法及注意事项                            |
|--|-----------|----------|--------------------------------------|
| 提取液  | 液体50mL×1瓶 | 4℃保存     | -                                    |
| 试剂一  | 液体20mL×1瓶 | 4℃保存     | -                                    |
| 试剂二  | 粉剂×1瓶     | -20℃保存   | 临用前加入0.6ml试剂一充分溶解。可分装后-20℃保存，避免反复冻融。 |
| 试剂三  | 粉剂×1瓶     | -20℃避光保存 | 临用前加入6mL试剂一充分溶解；可分装后-20℃保存，避免反复冻融。   |
| 试剂四  | 粉剂×1瓶     | -20℃避光保存 | 临用前每瓶加入6mL 试剂一混匀，可分装后-20℃保存，避免反复冻融。  |
| 试剂五  | 液体3mL×1瓶  | 4℃保存     | -                                    |
| 标准品  | 粉剂×1支     | 4℃保存     | 临用前加入1.04mL蒸馏水配成100μmol/mL 的标准溶液     |
| 工作液配制：临用前根据用量按照试剂三 (V) : 试剂四 (V) : 试剂五 (V) =1: 1: 0.5的比例充分混匀，现配现用。 |           |          |                                      |

### 产品说明：

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的和有氧代谢的重要指标。乳酸在乳酸脱氢酶的作用下生成丙酮酸，同时使NAD<sup>+</sup>还原生成NADH和H<sup>+</sup>，H<sup>+</sup>传递给PMS生成的PMSH<sub>2</sub>还原特异性底物，在450nm处有特征吸收峰。

### 自备实验用品及仪器：

天平、研钵/匀浆器、离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、恒温水浴锅、乙醇和蒸馏水。

## 操作步骤：

### 一、样本处理：

- 组织：按照质量（g）：提取液一体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g，加入1mL提取液）加入提取液，冰浴匀浆后于4℃，12000g离心10min后取上清待测。
- 细胞：按照细胞数量（10<sup>6</sup>个）：提取液一体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细胞加入1mL提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率300w，超声3秒，间隔7秒，总时间3min）；于4℃，12000g离心10min后取上清待测。
- 血清（浆）：取100μL血清（浆）加入0.9mL提取液，4℃ 12000g离心10min后取上清待测。

### 二、测定操作

- 分光光度计/酶标仪预热30min，波长调至450nm，分光光度计用蒸馏水调零。
- 标准液的稀释：将100μmol/mL 的标准溶液用蒸馏水稀释为10、5、2.5、1.25、0.625、0.3125、0μmol/mL的标准溶液待测。
- 加样表：

|         | 测定管 | 对照管 | 标准管 | 空白管 |
|---------|-----|-----|-----|-----|
| 样品（μL）  | 10  | 10  | -   | -   |
| 标准品（μL） | -   | -   | 10  | -   |
| 蒸馏水（μL） | -   | 10  | -   | 10  |
| 试剂一（μL） | 40  | 40  | 40  | 40  |
| 试剂二（μL） | 10  | -   | 10  | 10  |
| 工作液（μL） | 140 | 140 | 140 | 140 |

于 37℃准确反应 20min。于 450nm 处测定吸光值，分别记为 A 测定管，A 对照管，A 标准管，A 空白管，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ； $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。

### 三、乳酸含量的计算：

#### 1、标准曲线的绘制

以各标准溶液浓度为x轴，以其对应的吸光值（ $\Delta A_{\text{标准}}$ ）为y轴，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（μmol/mL）。

#### 2、乳酸含量计算

##### （1）按照蛋白含量计算

$$\text{LA含量} (\mu\text{mol}/\text{mg prot}) = x \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div \text{Cpr} = x \div \text{Cpr}。$$

##### （2）按照样本质量计算

$$\text{LA含量} (\mu\text{mol}/\text{g 鲜重}) = x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) = x \div W。$$

##### （3）按照细胞数量计算

$$\text{LA含量} (\mu\text{mol}/10^6 \text{ cell}) = x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) = x \div \text{细胞数量}。$$

##### （4）按照液体体积计算

$$\text{LA含量} (\mu\text{mol}/\text{mL}) = 10 \times x。$$

V样品：加入的样品体积，0.01mL。；W：样本质量，g/mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL，蛋白浓度需自行测定；V提取液：加入的提取液体积，1mL；5：细胞数量，5×10<sup>6</sup>个；V液体：液体样本体积0.1mL。



---

**注意事项:**

1. 若测定吸光值 $\Delta A$ 大于最大浓度标准品OD值, 请将样品体积进行适当的稀释后再进行测定, 并在计算公式中乘以稀释倍数。
2. 本试剂盒采用WST-8法检测原理, 不同于NBT法, 且具有无毒无害, 显色底物溶解性好, 显色稳定等优点, 深受广大科研工作者的青睐。