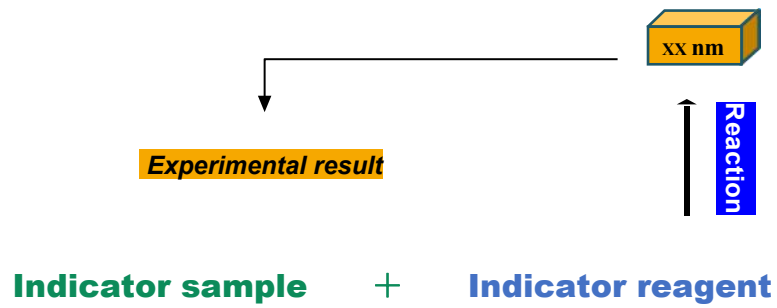


上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

## 乳酸含量 (LA) 检测试剂盒说明书

### 可见分光光度法

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30mL×1瓶	4℃保存	-
试剂一	液体50mL×1瓶	4℃保存	-
试剂二	粉剂×1瓶	-20℃保存	临用前加入1.5ml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15mL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15mL 试剂一混匀，可分装后-20℃保存，避免反复冻融
试剂五	液体7.5mL×1瓶	4℃保存	-
标准品	粉剂×1支	4℃保存	临用前加入1.04mL提取液配成100μmol/mL的标准溶液
显色液的配制：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、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°C, 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°C, 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°C 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、0.15625、0.078125 μmol/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)	50	50	-	-
标准品 (μL)	-	-	50	-
蒸馏水 (μL)	-	50	-	50
试剂一 (μL)	200	200	200	200
试剂二 (μL)	50	-	50	50
工作液 (μL)	700	700	700	700

于 37°C 准确反应 30min。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)。

#### 乳酸含量计算

##### (1) 按照蛋白含量计算

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

##### (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, 0.05mL。: W: 样本质量, g/mL; C<sub>pr</sub>: 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; 细胞数量, 5×10<sup>6</sup>个。

**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。