

乳酸含量 (lactic acid, LA) 试剂盒说明书

分光光度法 50 管/24 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

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。

测定原理：

乳酸在乳酸脱氢酶的作用下生成丙酮酸，同时使 NAD^+ 还原生成 NADH 和 H^+ ， H^+ 传递给 PMS 生成的 PMSH_2 还原 INT 生成红色物质，在 530nm 处有特征吸收峰。

组成：

产品名称	KC022-50T/24S	Storage
提取液：液体	55ml	4°C
试剂一：液体	5ml	4°C
试剂二：液体	12ml	4°C
试剂三：粉剂	1 支	-20°C避光
试剂四：粉剂	1 瓶	4°C避光
试剂五：粉剂	1 支	4°C避光
标准品：液体	1ml	4°C
说明书	一份	

试剂三：粉剂×1 支，-20°C避光保存。临用前加入 1.5ml 蒸馏水充分溶解。

试剂四：粉剂×1 瓶，4°C避光保存。临用前加 15ml 蒸馏水充分溶解。

显色液：临用前根据用量按照提取液 (V) : 试剂三 (V) : 试剂四 (V) : 试剂五 (m) = 1 (ml) : 0.3 (ml) : 3 (ml) : 15 (mg) 的比例充分混匀。（注意：现配现用，用多少配多少，在棕色瓶中配制，试剂盒中带有 5 个棕色空瓶）

自备仪器和用品：

天平、研钵、离心机、可见分光光度计、1 ml 玻璃比色皿、恒温水浴锅。

样本处理：



1. 组织：按照质量 (g) : 提取液体积(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, 取上清测定。
2. 细胞：按照细胞数量 (10⁴ 个) : 提取液体积 (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, 取上清测定。
3. 血清：直接测定。

测定操作:

	样品对照管	样品测定管	标准对照管	标准测定管
样品 (μl)	50	50		
标准品 (μl)			50	50
H ₂ O (μl)	300	450	300	450
试剂一 (μl)	150		150	
试剂二 (μl)	200	200	200	200
显色液 (μl)	300	300	300	300
充分混匀, 于 37°C 反应 30min, 于 1ml 玻璃比色皿, 蒸馏水调零, 测定 530nm 处吸光值, 分别记为 A1, A2, A3, A4, ΔA 样=A2-A1; ΔA 标 = A4-A3				

注意: 标准对照管和标准测定管只需测定一次, 每个样品测定管设一个样品对照管

计算公式:

1. 按照蛋白含量计算

$$\text{LA 含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = \Delta A \text{ 样} \div \Delta A \text{ 标} \times C \text{ 标} \div Cpr$$

$$= 2 \times \Delta A \text{ 样} \div \Delta A \text{ 标} \div Cpr$$

2. 按照样本质量计算

$$\text{LA 含量 } (\mu\text{mol/g 鲜重}) = \Delta A \text{ 样} \div \Delta A \text{ 标} \times C \text{ 标} \div W$$

$$= 2 \times \Delta A \text{ 样} \div \Delta A \text{ 标} \div W$$

3. 按照细胞数量计算

$$\text{LA 含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = \Delta A \text{ 样} \div \Delta A \text{ 标} \times C \text{ 标} \div \text{细胞数量}$$

$$= 2 \times \Delta A \text{ 样} \div \Delta A \text{ 标} \div \text{细胞数量}$$

4. 按照液体体积计算

$$\text{LA 含量 } (\mu\text{mol/ml}) = \Delta A \text{ 样} \div \Delta A \text{ 标} \times C \text{ 标}$$

$$= 2 \times \Delta A \text{ 样} \div \Delta A \text{ 标}$$

C 标: 标准品浓度, 2mmol/L ; W: 样本质量, g/ml; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/ml

注意事项:

1. 若吸光值超过 2, 请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. 最低检出限为 1.8μmol/L。

