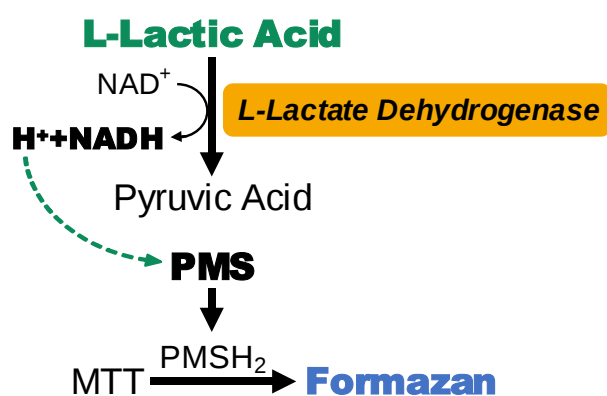




## L-乳酸 (L-LA) 含量检测试剂盒 (MTT 法)

### L-Lactic Acid (L-LA) Content Assay Kit (MTT Method)



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





## L-乳酸 (L-LA) 含量检测试剂盒 (MTT 法)

## L-Lactic Acid (L-LA) Content Assay Kit (MTT Method)

## 一、产品描述

乳酸是生物体代谢过程中重要的中间产物，既是糖酵解供能系统的终产物，又是有氧代谢供能系统的氧化基质，在机体能量代谢、氧化还原信号传导和脂质代谢等过程中具有重要作用，其含量可作为评估有氧代谢和糖原代谢的重要指标，并且在医药、农业、工业和食品科学等领域具有广泛应用。

L-乳酸脱氢酶 (L-LDH) 能够催化 L-乳酸生成丙酮酸，同时使  $\text{NAD}^+$  还原生成 NADH 和  $\text{H}^+$ ，进一步通过 PMS 的递氢作用，还原氧化型噻唑蓝 (MTT) 生成甲臜，产物在 570 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测 L-乳酸的含量。

## 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 A                                                                                                           | 液体 120 mL×1 瓶            | 4°C 保存     | -                                                         |
| 提取液 B                                                                                                           | 液体 18 mL×1 瓶             | 4°C 保存     | -                                                         |
| 试剂一                                                                                                             | 液体 12 mL×1 瓶             | 4°C 保存     | -                                                         |
| 试剂二                                                                                                             | 液体 70 $\mu\text{L}$ ×1 瓶 | 4°C 避光保存   | 使用前按试剂二：蒸馏水=1:45 的体积比配制<br>(根据使用量现用现配，充分混匀后使用)            |
| 试剂三                                                                                                             | 粉剂×3 瓶                   | -20°C 避光保存 | 使用前每瓶加入 3 mL 蒸馏水充分溶解<br>(分装后 -20°C 可保存 2 周，避免反复冻融)        |
| 试剂四                                                                                                             | 液体 3 mL×1 瓶              | 4°C 保存     | -                                                         |
| 试剂五                                                                                                             | 粉剂×3 瓶                   | -20°C 避光保存 | 使用前每瓶加入 5 mL 蒸馏水充分溶解<br>(分装后 -20°C 可保存 1 周，避免反复冻融)        |
| 试剂六                                                                                                             | 粉剂×3 瓶                   | 4°C 避光保存   | 使用前每瓶加入 5 mL 蒸馏水充分溶解<br>(配制后 4°C 可保存 1 周)                 |
| 试剂七                                                                                                             | 液体 60 mL×1 瓶             | 4°C 保存     | -                                                         |
| 试剂八                                                                                                             | 液体 60 mL×1 瓶             | 4°C 保存     | -                                                         |
| 标准品                                                                                                             | 粉剂×1 支                   | 4°C 保存     | 使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解<br>(即为 100 $\mu\text{mol/mL}$ L-乳酸标准液) |
| 标准稀释液的制备 (现用现配)：使用前将 100 $\mu\text{mol/mL}$ L-乳酸标准液使用蒸馏水稀释至 2.5、2.0、1.6、0.8、0.4、0.2 $\mu\text{mol/mL}$ 即为标准稀释液。 |                          |            |                                                           |

### 三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

#### 1.待测样本的制备（可根据预实验结果适当调整样品量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液 A 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 A）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 12000 g 离心 10 min，吸取 800 μL 上清液至离心管中，加入 150 μL 提取液 B 充分混匀，4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量（ $10^4$  个）：提取液 A 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 A）处理样品，冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4℃ 12000 g 离心 10 min，吸取 800 μL 上清液至离心管中，加入 150 μL 提取液 B 充分混匀，4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：吸取 100 μL 液体样本加入 1 mL 提取液 A，4℃ 12000 g 离心 10 min，吸取 800 μL 上清液至离心管中，加入 150 μL 提取液 B 充分混匀，4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

#### 2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 570 nm。

②标准稀释液的制备（现用现配）：使用前将 100 μmol/mL L-乳酸标准液使用蒸馏水稀释至 2.5、2.0、1.6、0.8、0.4、0.2 μmol/mL 即为标准稀释液。

| 序号             | A   | 1   | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   |
|----------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 稀释前浓度（μmol/mL） | 100 | 10  | 10  | 10  | 1.6 | 0.8 | 0.4 |
| 标准液体积（μL）      | 100 | 100 | 100 | 80  | 200 | 200 | 200 |
| 蒸馏水体积（μL）      | 900 | 300 | 400 | 420 | 200 | 200 | 200 |
| 稀释后浓度（μmol/mL） | 10  | 2.5 | 2.0 | 1.6 | 0.8 | 0.4 | 0.2 |

③在离心管中依次加入下列试剂（避光条件下进行）：

| 试剂                           | 测定管<br>( $\mu\text{L}$ ) | 对照管<br>( $\mu\text{L}$ ) | 标准管<br>( $\mu\text{L}$ ) | 空白管<br>( $\mu\text{L}$ ) |
|------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 待测样本                         | 10                       | 10                       | -                        | -                        |
| 标准稀释液                        | -                        | -                        | 10                       | -                        |
| 蒸馏水                          | -                        | 10                       | -                        | 10                       |
| 试剂一                          | 40                       | 40                       | 40                       | 40                       |
| 试剂二                          | 10                       | -                        | 10                       | 10                       |
| 试剂三                          | 20                       | 20                       | 20                       | 20                       |
| 充分混匀，37°C避光准确反应 20 min       |                          |                          |                          |                          |
| 试剂四                          | 10                       | 10                       | 10                       | 10                       |
| 试剂五                          | 30                       | 30                       | 30                       | 30                       |
| 试剂六                          | 30                       | 30                       | 30                       | 30                       |
| 充分混匀，室温避光准确反应 20 min         |                          |                          |                          |                          |
| 试剂七                          | 200                      | 200                      | 200                      | 200                      |
| 充分混匀，室温静置 5 min              |                          |                          |                          |                          |
| 15000 g 常温离心 15 min，弃上清液，留沉淀 |                          |                          |                          |                          |
| 试剂八                          | 220                      | 220                      | 220                      | 220                      |
| 充分振荡混匀，使沉淀完全溶解               |                          |                          |                          |                          |

**吸光值测定：**吸取 200  $\mu\text{L}$  反应液至 96 孔板中，测定 570 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：每个样品均需设一个对照管，各浓度标准管和空白管只需测定 1-2 次。

**标准曲线的建立：**以 2.5、2.0、1.6、0.8、0.4、0.2  $\mu\text{mol/mL}$  为横坐标 (x)，以其对应的  $\Delta A$  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. L-乳酸 (L-LA) 含量计算

①按组织蛋白含量计算

$$\text{L-乳酸含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = \frac{x \times (V_{\text{上清液}} + V_{\text{提 B}}) \times V_{\text{提 A}}}{\text{Cpr} \times W \times V_{\text{上清液}}} = \frac{1.1875 \times x}{\text{Cpr} \times W}$$

## ②按组织样本质量计算

$$\text{L-乳酸含量} (\mu\text{mol/g}) = \frac{x \times (V_{\text{上清液}} + V_{\text{提 B}}) \times V_{\text{提 A}}}{W \times V_{\text{上清液}}} = \frac{1.1875 \times x}{W}$$

## ③按细菌或细胞数量计算

$$\text{L-乳酸含量} (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = \frac{x \times (V_{\text{上清液}} + V_{\text{提 B}}) \times V_{\text{提 A}}}{\text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{上清液}}} = \frac{1.1875 \times x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

## ④按液体样本体积计算

$$\text{L-乳酸含量} (\mu\text{mol/mL}) = \frac{x \times (V_{\text{上清液}} + V_{\text{提 B}}) \times (V_{\text{液}} + V_{\text{提 A}})}{V_{\text{液}} \times V_{\text{上清液}}} = 13.0625 \times x$$

**注释：** V 提 A：提取过程中加入提取液 A 的体积，1 mL；V 上清液：提取过程中吸取上清液的体积，0.8 mL；V 提 B：提取过程中加入提取液 B 的体积，0.15 mL；V 液：提取过程中加入液体样本的体积，0.1 mL；Cpr：样本蛋白含量，mg/g；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计，若 500 万细菌或细胞则代入 500 即可。

#### 四、注意事项

①若 A 测定或 ΔA 测定超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将待测样本使用蒸馏水适当稀释后再进行测定；低于最低值建议制备更高浓度样本后再进行测定，计算时相应修改；

②试剂三、试剂五和试剂六配制后有效期较短，为便于试验安排，均附赠一瓶作为备用，每瓶均可完成至少 50 个样本的检测；

③提取液中含有蛋白沉淀组分，待测样本不能用于蛋白含量测定，若使用蛋白浓度计算 L-乳酸含量，则需要另取样本使用 PBS 或生理盐水按照相同步骤制备为待测样本，再进行蛋白浓度测定；

④实验过程中弃上清液时应避免吸入沉淀物而影响结果的准确性；

⑤准确在规定时间点完成吸光值测定，以确保检测结果的准确性和重复性；若样本较多可分批进行检测，以确保组间反应时间一致；

⑥反应体系中试剂不能按比例配制为混合液使用，必须按反应体系顺序依次加入；

⑦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.**

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

**Notes:**

---

# boxbio

**Manufactured and Distributed by**

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: [techsupport@boxbio.cn](mailto:techsupport@boxbio.cn)

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

