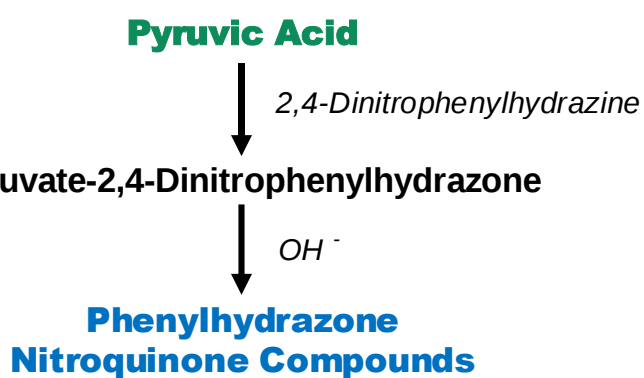




丙酮酸 (PA) 含量检测试剂盒

Pyruvic Acid (PA) Content Assay Kit



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



## 丙酮酸（PA）含量检测试剂盒

## Pyruvic Acid (PA) Content Assay Kit

## 一、产品描述

丙酮酸（PA）是生物代谢及物质转化过程中重要的中间体，可通过乙醛 CoA 和三羧酸循环实现体内糖、脂肪和氨基酸之间的相互转化，在营养物质代谢过程中起着重要的枢纽作用。丙酮酸分子中同时具有羰基和羧基两个官能团，除具有羧酸和酮的性质外，还具有  $\alpha$ -酮酸的特性，作为一种基本化工原料在化学、制药、食品、农业及环保等领域具有广泛应用。

丙酮酸能够与 2,4-二硝基苯肼反应生成丙酮酸-2,4-二硝基苯腙，在碱性溶液中进一步被氧化为棕色物质，产物在 520 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测丙酮酸的含量。

## 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                                                                                         | 液体 120 mL×1 瓶 | 4°C避光保存 | -                       |
| 试剂一                                                                                         | 液体 5 mL×1 瓶   | 4°C避光保存 | -                       |
| 试剂二                                                                                         | 液体 15 mL×1 瓶  | 4°C保存   | -                       |
| 标准液                                                                                         | 液体 1 mL×1 支   | 4°C避光保存 | 10 $\mu$ mol/mL 丙酮酸钠标准液 |
| 标准稀释液的制备：将 10 $\mu$ mol/mL 丙酮酸钠标准液使用蒸馏水稀释至 0.6、0.4、0.2、0.1、0.05、0.025 $\mu$ mol/mL 即为标准稀释液。 |               |         |                         |

| 序号                    | A   | 1   | 2   | 3   | 4   | 5    | 6     |
|-----------------------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-------|
| 稀释前浓度 ( $\mu$ mol/mL) | 10  | 1.0 | 1.0 | 0.4 | 0.2 | 0.1  | 0.05  |
| 标准液体积 ( $\mu$ L)      | 100 | 300 | 200 | 200 | 200 | 200  | 200   |
| 蒸馏水体积 ( $\mu$ L)      | 900 | 200 | 300 | 200 | 200 | 200  | 200   |
| 稀释后浓度 ( $\mu$ mol/mL) | 1.0 | 0.6 | 0.4 | 0.2 | 0.1 | 0.05 | 0.025 |

### 三、产品使用说明

**测定过程中所需要的仪器和试剂：**可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机和蒸馏水。

#### 1. 样本处理（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，室温静置 30 min，8000 g 常温离心 10 min，取上清待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞到离心管内，按照细菌或细胞数量( $10^4$  个)：提取液体积(mL) 为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 20%，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），室温静置 30 min，8000 g 常温离心 10 min，取上清待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：按照液体样本体积（mL）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议吸取 0.1 mL 液体样本加入 0.9 mL 提取液）处理样本，充分混匀，室温静置 30 min，8000 g 常温离心 10 min，取上清待测。

#### 2. 测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 520 nm，蒸馏水调零。

②在 96 孔板或离心管中依次加入下列试剂：

| 试剂              | 测定组<br>( $\mu$ L) | 标准组<br>( $\mu$ L) | 空白组<br>( $\mu$ L) |
|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 待测样本            | 75                | -                 | -                 |
| 标准稀释液           | -                 | 75                | -                 |
| 蒸馏水             | -                 | -                 | 75                |
| 试剂一             | 25                | 25                | 25                |
| 充分混匀，室温静置 2 min |                   |                   |                   |
| 试剂二             | 125               | 125               | 125               |

**吸光值测定：**测定 520 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 标准和 A 空白，计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：空白组只需测定 1-2 次。

**标准曲线的建立：**以 0.6、0.4、0.2、0.1、0.05、0.025  $\mu\text{mol/mL}$  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. 丙酮酸 (PA) 含量计算

#### ① 按组织蛋白浓度计算

$$\text{丙酮酸含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{C_{\text{pr}} \times V_{\text{样总}}} = \frac{x}{C_{\text{pr}}}$$

#### ② 按组织样本质量计算

$$\text{丙酮酸含量 } (\mu\text{mol/g}) = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{W} = \frac{x}{W}$$

#### ③ 按细菌或细胞数量计算

$$\text{丙酮酸含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{\text{细菌或细胞数量}} = \frac{x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

#### ④ 按液体样本体积计算

$$\text{丙酮酸含量 } (\mu\text{mol/mL}) = \frac{x \times (V_{\text{提}} + V_{\text{液}})}{V_{\text{液}}} = 10 \times x$$

**注释:** V 样总: 待测样本总体积, 1 mL; V 提: 液体样本提取过程中加入提取液的体积, 0.9 mL;

V 液: 液体样本提取过程中加入液体样本的体积, 0.1 mL; C<sub>pr</sub>: 待测样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 细菌或细胞数量, 以万计。

### 四、注意事项

① 血液样本抗凝剂建议使用肝素钠-氟化钠, 抗凝血样本应低温保存并尽快分离血浆;

② 若测定吸光值超出标准吸光值线性范围: 高于最高值建议将待测样本适当稀释后再进行测定, 低于最低值建议适当增加样本量后再进行测定, 计算时相应修改;

③ 提取液中含有蛋白沉淀剂, 若采用蛋白浓度方式计算, 需使用 PBS 重新提取再测定蛋白浓度;

④ 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.**

**boxbio**

**Manufactured and Distributed by**

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

