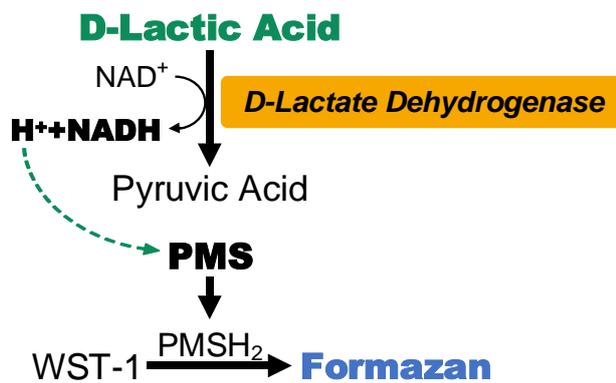




D-乳酸 (D-LA) 含量检测试剂盒
D-Lactic Acid (D-LA) Content Assay Kit



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



D-乳酸 (D-LA) 含量检测试剂盒

D-Lactic Acid (D-LA) Content Assay Kit

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。

D-乳酸脱氢酶 (D-LDH) 能够催化 D-乳酸生成丙酮酸，同时使 NAD^+ 还原生成 NADH 和 H^+ ，在 1-mPMS 作用下，WST-1 能够与 NADH 反应生成水溶性甲瓩，产物在 450 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测 D-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 30 mL×1 瓶	4°C 保存	-
提取液 B	液体 5 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 30 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×2 支	-20°C 保存	使用前每支加入 160 μL 蒸馏水充分溶解 (现用现配, 配制后 4°C 可保存 1 个月)
试剂三	粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前加入 15 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后 -20°C 可保存 1 个月, 避免反复冻融)
试剂四	液体 12 mL×1 瓶	4°C 保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	-20°C 保存	1000 $\mu\text{mol/mL}$ D-乳酸标准液
标准应用液的制备 (现用现配): 使用前将 1000 $\mu\text{mol/mL}$ D-乳酸标准液使用蒸馏水稀释至 0.3 $\mu\text{mol/mL}$ 即为标准应用液。			

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、1 mL 玻璃比色皿 (光径 10 mm)、研钵/匀浆器、台式离心机、可调式移液器、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 样本处理（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°C 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°C 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

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°C 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°C 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

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°C 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°C 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

注：提取液 B 加入时会产生大量气泡，应缓慢加入并吹打混匀至无气泡产生，建议使用 2 mL 离心管。

2. 测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 450 nm，蒸馏水调零。

②检测工作液的制备（现用现配）：使用前根据使用量，按照试剂二：蒸馏水=1:9 的体积比配制。

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 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
待测样本	100	100	-	-
标准应用液	-	-	100	-
蒸馏水	-	100	-	100
试剂一	450	450	450	450
检测工作液	100	-	100	100
试剂三	200	200	200	200
试剂四	150	150	150	150
充分混匀，37°C 避光准确反应 30 min				

吸光值测定：将反应液置于 1 mL 玻璃比色皿中，测定 450 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：空白管只需测定 1-2 次，每个样品均需设一个对照管。

3.D-乳酸 (D-LA) 含量计算

①按组织蛋白含量计算

$$\text{D-乳酸含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = \frac{C \text{ 标} \times \Delta A \text{ 测定}}{C_{\text{pr}} \times \Delta A \text{ 标准}} = \frac{0.3 \times \Delta A \text{ 测定}}{C_{\text{pr}} \times \Delta A \text{ 标准}}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{D-乳酸含量 } (\mu\text{mol/g}) = \frac{C \text{ 标} \times \Delta A \text{ 测定} \times (V \text{ 上清} + V \text{ 提 B}) \times V \text{ 提 A}}{W \times V \text{ 上清} \times \Delta A \text{ 标准}} = \frac{0.356 \times \Delta A \text{ 测定}}{W \times \Delta A \text{ 标准}}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{D-乳酸含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = \frac{C \text{ 标} \times \Delta A \text{ 测定} \times (V \text{ 上清} + V \text{ 提 B}) \times V \text{ 提 A}}{\text{cell} \times V \text{ 上清} \times \Delta A \text{ 标准}} = \frac{0.356 \times \Delta A \text{ 测定}}{\text{cell} \times \Delta A \text{ 标准}}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{D-乳酸含量 } (\mu\text{mol/mL}) = \frac{C \text{ 标} \times \Delta A \text{ 测定} \times (V \text{ 上清} + V \text{ 提 B}) \times (V \text{ 液} + V \text{ 提 A})}{V \text{ 液} \times V \text{ 上清} \times \Delta A \text{ 标准}} = \frac{3.919 \times \Delta A \text{ 测定}}{\Delta A \text{ 标准}}$$

注释: C 标: 标准应用液浓度, 0.3 $\mu\text{mol/mL}$; V 提 A: 提取过程中加入提取液 A 的体积, 1 mL;

V 上清: 提取过程中上清液的体积, 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; W: 样本质量, g; Cpr: 样本蛋白含量, mg/g; cell:

细菌或细胞数量, 以万计。

四、注意事项

①提取液 A 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 D-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;

②若 A 测定大于 1.0, 建议将待测样本适当稀释后再进行测定; 若 A 测定小于 0.02, 建议适当增加样本量后再进行测定, 计算时相应修改;

③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.

