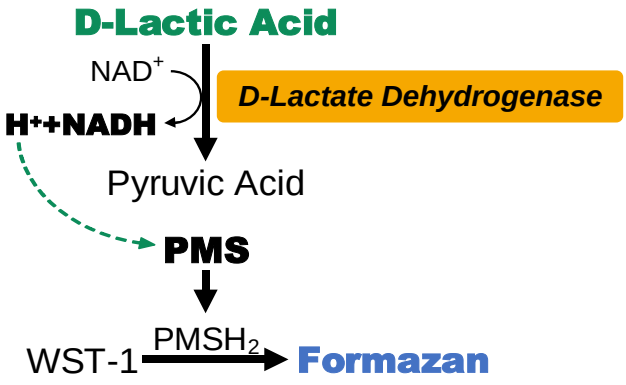
D-乳酸（D-LA）含量检测试剂盒

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.

Catalog Number **AKAC014M**
Storage Temperature **-20°C**
Size **100T/48S**

Microanalysis Methods

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 反应生成水溶性甲瓒，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 60 mL×1 瓶	4℃保存	-
提取液 B	液体 10 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂一	液体 10 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂二	粉剂×1 支	-20℃保存	**使用前加入 160 μL 蒸馏水充分溶解**（现用现配，配制后 4℃可保存 1 个月）
试剂三	粉剂×1 瓶	-20℃保存	**使用前加入 5 mL 蒸馏水充分溶解**（分装后-20℃可保存 1 个月，避免反复冻融）
试剂四	液体 4 mL×1 瓶	4℃保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	-20℃保存	**1000 μmol/mL D-乳酸标准液**
标准应用液的制备（现用现配）：使用前将 1000 μmol/mL D-乳酸标准液使用蒸馏水稀释至 0.3 μmol/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/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、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。

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

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℃ 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分光光度计或酶标仪预热 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 96 孔板或离心管中依次加入下列试剂**（避光条件下进行）：**

试剂	测定组（μL）	对照组（μL）	标准组（μL）	空白组（μL）
待测样本	20	20	-	-
标准应用液	-	-	20	-
蒸馏水	-	20	-	20
试剂一	90	90	90	90
检测工作液	20	-	20	20
试剂三	40	40	40	40
试剂四	30	30	30	30
充分混匀，37℃避光准确反应 30 min				

吸光值测定：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ΔA 测定=A 测定-A 对照，ΔA 标准=A 标准-A 空白。注：空白组只需测定 1-2 次，每个样品均需设一个对照组。

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

3.D-乳酸（D-LA）含量计算

①按组织蛋白含量计算

$$\text{D-乳酸含量（μmol/mg prot）} = \frac{\text{C 标×ΔA 测定}}{\text{Cpr×ΔA 标准}} = \frac{0.3\times\text{ΔA 测定}}{\text{Cpr×ΔA 标准}}$$

②按组织样本质量计算

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

③按细菌或细胞数量计算

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

④按液体样本体积计算

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

注释：C 标：标准应用液浓度，0.3 μmol/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.