

乳酸（LA）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1115

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/96T

检测范围：0.0625mM-4mM 灵敏度：0.0625mM

适用样本：动植物组织、细胞、血清（浆）或其他液体

产品简介

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。异常高浓度的乳酸与癌症，糖尿病和乳酸酸中毒等病理状况有关。本试剂盒提供了一种检测生物样品如动植物组织，血清或血浆，细胞，培养基和发酵培养基中 L(+)-乳酸的便捷方法。在该试剂盒中，乳酸盐被乳酸脱氢酶氧化，产生与四唑盐 WST-8 染料相互作用的产物，形成与样本中的乳酸盐浓度成正比例的有色产物，最大吸收峰在 450nm。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃
反应缓冲液	5mL	10mL	4℃
试剂一	50 μ L	100 μ L	-20℃
试剂二	0.5mL	1mL	-20℃
试剂三	300 μ L	600 μ L	4℃，避光保存
试剂四	60 μ L	120 μ L	4℃，避光保存
乳酸标准品（100mM）	50 μ L	100 μ L	-20℃

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 450nm 处的吸光度）

恒温箱、制冰机、低温离心机

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

反应缓冲液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂一：使用时，用反应缓冲液进行 1:20 稀释，整个实验过程中，冰上避光放置。现用现配，用多少配多少；保存于-20℃。

试剂二：即用型；整个实验过程中，冰上放置；分装保存于-20℃。

试剂三：即用型；整个实验过程中，冰上避光放置；4℃，避光保存。

试剂四：即用型；整个实验过程中，冰上避光放置；4℃，避光保存。

产品说明书

工作液：每孔准备 85 μ L 工作液，现配现用：吸取 61 μ L 反应缓冲液，8 μ L 试剂二，5 μ L 试剂三，1 μ L 试剂四和 10 μ L 稀释后的试剂一混合均匀。

乳酸标准品 (4mM)：100mM 乳酸标准品分装保存于-20 $^{\circ}$ C。取 100mM 乳酸标准品用提取液 1:25 稀释，建议取 20 μ L 100mM 乳酸标准品，加 480 μ L 提取液稀释至 4mM，混合均匀。

标准曲线设置：按下表所示，用提取液将 4mM 标准品稀释为 4、2、1、0.5、0.25、0.125、0.0625mM 的标准溶液。

	标准品体积 (μ L)	提取液体积 (μ L)	标准品浓度 (mM)
Std. 1	400 μ L 4mM	0	4
Std. 2	200 μ L of Std. 1	200	2
Std. 3	200 μ L of Std. 2	200	1
Std. 4	200 μ L of Std. 3	200	0.5
Std. 5	200 μ L of Std. 4	200	0.25
Std. 6	200 μ L of Std. 5	200	0.125
Std. 7	200 μ L of Std. 6	200	0.0625

样本制备

动植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，12,000g，4 $^{\circ}$ C 离心 10min，取上清液，置冰上待测。

细胞：收集 500 万细胞到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎细胞 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 12,000g，4 $^{\circ}$ C 离心 10min，取上清液，置冰上待测。

血清、血浆或其它生物学液体：可直接用来检测，或者如果有必要，建议将样本根据预实验结果用提取液稀释后再进行检测。

注意：建议使用新鲜样本。如果不立即使用，可将样品在-80 $^{\circ}$ C 下保存一个月。大多数样本含有内源性乳酸脱氢酶 (LDH) 可降解乳酸，制备好的样本应尽快检测，或通过 10kDa MW 离心式过滤器 (超滤管) 过滤，取滤液，以去除所有蛋白质，然后-80 $^{\circ}$ C 保存。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 450nm，可见光分光光度计去离子水调零。
2. 操作表（下述操作在 96 孔板或微量玻璃比色皿中操作）：

试剂 (μ L)	空白孔	标准孔	测定孔	对照孔
样本	0	0	20	20
标准品	0	20	0	0
提取液	20	0	0	0
工作液	80	80	80	0
反应缓冲液	0	0	0	80

3. 混匀后，37 $^{\circ}$ C 避光孵育 30min，测定 450nm 处吸光度，空白孔记为 $A_{空}$ ，标准孔记为 $A_{标}$ ，测定孔记为 $A_{测}$ ，对照孔记为 $A_{对}$ 。计算 $\Delta A_{测} = A_{测} - A_{对}$ ， $\Delta A_{标} = A_{标} - A_{空}$ （空白和标准曲线只需做 1 次）。

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 $\Delta A_{测}$ 小于 0.01 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{测}$ 大于 1.0，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

产品说明书

结果计算

1. 标准曲线的绘制

以标准溶液浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。

2. 乳酸含量的计算

将样本的 $\Delta A_{\text{测}}$ 代入方程得到 y 值（ $1\text{mM}=1\ \mu\text{mol/mL}$ ）。

(1) 按样本鲜重计算

$$\text{乳酸含量} (\mu\text{mol/g 鲜重}) = y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div W \times n$$

(2) 按样本体积计算

$$\text{乳酸含量} (\mu\text{mol/mL}) = y \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \times n = y \times n$$

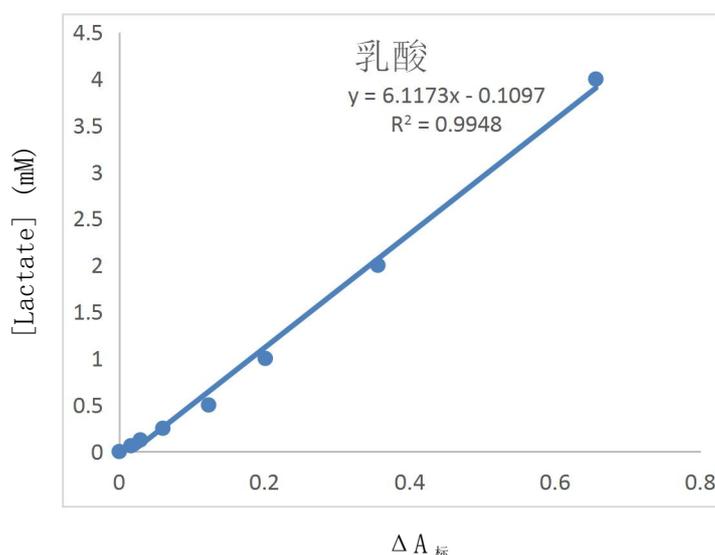
(3) 按细胞数目计算

$$\text{乳酸含量} (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cells}) = y \times V_{\text{样}} \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div 500 \times n = 0.002 \times y \times n$$

$V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.02mL; W : 样本质量, g; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; n : 样本稀释倍数; 500: 细胞数量, 500 万。

结果展示

典型标准曲线-以下数据和曲线仅供参考，实验者需根据自己的实验建立标准曲线。



注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1001 乳酸脱氢酶 (LDH) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1116 丙酮酸 (PA) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1110 丙酮酸脱氢酶 (PDH) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

