

草酰乙酸（OAA）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1881

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/96T

检测范围：0.00625mg/mL-0.4mg/mL 灵敏度：0.00313mg/mL

适用样本：动植物组织、细胞、细菌、真菌

产品简介

草酰乙酸在三羧酸循环的第一步中与乙酰辅酶 A 缩合生成柠檬酸，并在最后一步通过苹果酸脱氢酶催化 L-苹果酸脱氢再生。它是糖异生的中间体，通过丙酮酸的羧化作用在线粒体中由丙酮酸与 CO₂ 生成，随后脱羧和磷酸化形成磷酸烯醇式丙酮酸。另外，它也可以在转氨酶的作用下添加来自谷氨酸的氨基而转化为天冬氨酸。草酰乙酸可降低闭合性头部损伤大鼠模型中的血液谷氨酸水平、神经功能障碍的严重程度和脑水肿。已知也可作为琥珀酸脱氢酶的抑制剂。本试剂盒提供了一种简单、方便、快速的草酰乙酸含量检测方法，其原理是草酰乙酸与特定染料结合形成红色沉淀物质，加入有机溶剂溶解沉淀后，溶液在 520nm 处有特征吸光值，通过检测 520nm 处光吸收增加速率可以计算草酰乙酸含量。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃ 保存
反应缓冲液	5mL	10mL	4℃ 保存
试剂一	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20℃ 避光保存
试剂二	10mL	20mL	4℃ 保存
标准品	粉剂×1 支	粉剂×1 支	-20℃ 保存

自备耗材

酶标仪或分光光度计（能测 520nm 处的吸光度）
96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
水浴锅、制冰机，低温离心机
去离子水
匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

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：临用前配制，每支试剂一中加入 1.2mL 去离子水，充分混匀待用；现用现配，4℃ 避光保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

标准品：含 5mg 草酰乙酸，临用前加入 1mL 去离子水溶解，配制 5mg/mL 标准品分装 -20℃ 避光保存，避免反复冻融。

标准曲线设置：按下表所示，用反应缓冲液将 5mg/mL 标准品稀释为 0.4、0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625mg/mL 的标准溶液。

标准品体积 (μL)	反应缓冲液体积 (μL)	标准品浓度 (mg/mL)
------------	--------------	---------------

产品说明书

标准品 1	16μL 5mg/mL	184	0.4
标准品 2	100μL of 标准品 1	100	0.2
标准品 3	100μL of 标准品 2	100	0.1
标准品 4	100μL of 标准品 3	100	0.05
标准品 5	100μL of 标准品 4	100	0.025
标准品 6	100μL of 标准品 5	100	0.0125
标准品 7	100μL of 标准品 6	100	0.00625

注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

样本制备

1. 动植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液匀浆，12,000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。
2. 细胞、细菌或真菌：收集 500 万细胞、细菌或真菌到离心管内，用冷 PBS 清洗，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 12,000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

注意：建议您使用新鲜样品，如果不立即实验，样品可在-80℃保存 6 个月。

实验步骤

1. 酶标仪或分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 520nm。分光光度计去离子水调零。
2. 反应缓冲液和试剂一于 30℃水浴 10min 以上。
3. 操作表（96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂）：

试剂（μL）	空白孔	标准孔	测定孔
样本	0	0	20
标准品	0	20	0
试剂一	20	20	20
反应缓冲液	60	40	40

30℃保温 10min

试剂二	160	160	160
-----	-----	-----	-----

混匀后静置 5min，测定 520nm 处吸光度，空白孔记为 $A_{空}$ ，标准孔记为 $A_{标}$ ，测定孔记为 $A_{测}$ 。计算 $\Delta A_{测} = A_{测} - A_{空}$ ， $\Delta A_{标} = A_{标} - A_{空}$ （空白管和标准曲线只需做 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 0.005 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{测}$ 大于 2.0，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。

结果计算

标准曲线的绘制

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

2. 草酰乙酸含量的计算

将样本的 $\Delta A_{测}$ 代入方程得到 y 值（mg/mL）。

（1）按样本鲜重计算

$$\text{草酰乙酸含量 (mg/g 鲜重)} = y \times V_{样} \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \times n = y \div W \times n$$

（2）按细胞数目计算

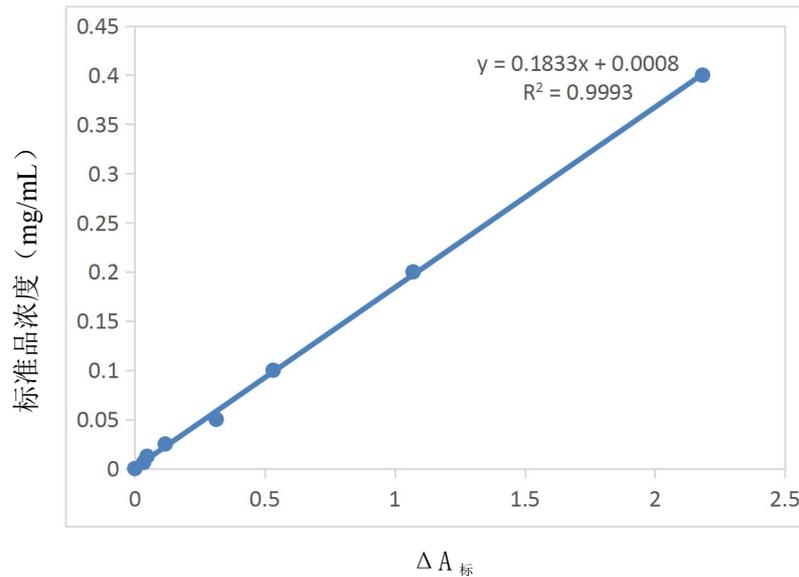
$$\text{草酰乙酸含量 (mg/10}^4 \text{ cells)} = y \times V_{样} \div (\text{细胞数量} \times V_{样} \div V_{样总}) \times n = y \div 500 \times n = 0.002y \times n$$

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

产品说明书

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：

PMK1005 柠檬酸合酶(CS) 检测试剂盒（微量法）

PMK1115 乳酸 (LA) 检测试剂盒（微量法）

PMK1116 丙酮酸 (PA) 检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

