

丙酮酸（PA）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1116

保存：4°C 保存 12 个月

规格：48T/48S 96T/96S

检测范围：1.094–70µg/mL(标准品的检测范围) 灵敏度：0.5µg/mL(标准品的灵敏度)

适用样本：动植物组织、细胞、细菌、血清（浆）

产品简介

丙酮酸（PA）通过乙酰 CoA 连接葡萄糖、脂肪酸和氨基酸三大代谢，起着重要的枢纽作用。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法，用于分析各种生物样本中的丙酮酸含量，其原理是样品中丙酮酸与 2,4-二硝基苯肼反应，生成丙酮酸-2,4-二硝基苯腙，在碱性溶液中呈红色，该红色化合物在 520nm 处有最大吸收峰。在一定的浓度范围内，丙酮酸含量与 520nm 吸光度成线性关系，根据标准曲线，即可计算出样品中丙酮酸含量。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	60mL	120mL	4°C 保存
试剂一	1.5mL	3mL	4°C 避光保存
试剂二	7.5mL	15mL	4°C 保存
标准品（1mg/mL）	1mL	1mL	4°C 保存

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能检测 520nm）
96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
离心机
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°C 保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4°C 避光保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4°C 保存。

标准品制备：

标准曲线设置：按下表所示用提取液将 1mg/mL 标准溶液稀释至 70、35、17.5、8.75、4.375、2.188、1.094 µg/mL 的标准液。

	标准品体积	提取液（µL）	标准品浓度（µg/mL）
Std. 1	35µL 1mg/mL	465	70
Std. 2	200µL of Std. 1 (70µg/ml)	200	35
Std. 3	200µL of Std. 2 (35µg/ml)	200	17.5

产品说明书

Std. 4	200μL of Std. 3 (17.5μg/ml)	200	8.75
Std. 5	200μL of Std. 4 (8.75μg/ml)	200	4.375
Std. 6	200μL of Std. 5 (4.375μg/ml)	200	2.188
Std. 7	200μL of Std. 6 (2.188μg/ml)	200	1.094

注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

样本制备

动物组织：称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液匀浆，静置 30min，4,000g，常温离心 10min，取上清液待测。

植物组织：称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液匀浆，然后超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），静置 30min，4,000g，常温离心 10min，取上清液待测。

细胞/细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，弃上清，加 1mL 提取液，超声波破碎 5min 功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），静置 30min，4,000g，常温离心 10min，取上清液待测。

血清（浆）样品：取 100 μL 血清（浆）加入 1mL 提取液，充分混匀，静置 30min，4,000g，常温离心 10min，取上清液待测。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 6 个月。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 520nm，去离子水调零；

2. 样本测定（在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂）：

试剂名称	空白孔（μL）	标准孔（μL）	测定孔（μL）
待测样本	0	0	75
不同浓度的标准品	0	75	0
提取液	75	0	0
试剂一	25	25	25

混匀后，室温静置 2min

试剂二	125	125	125
-----	-----	-----	-----

混匀，在 520nm 波长处测定各孔的吸光值 A。计算相对吸光值 $\Delta A_{测} = A_{测定} - A_{空白}$ 、 $\Delta A_{标} = A_{标准} - A_{空白}$ 。（空白孔只需做一管）

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 0.001 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

1. 标准曲线的绘制

以标准液浓度为 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）。将 $\Delta A_{测}$ 带入方程计算出 y（μg/mL）。

2. 样本丙酮酸含量计算

（1）按样本质量计算：

丙酮酸含量（μg/g 质量）= $(y \times V_{样}) \div (W \times V_{样} \div V_{提取}) \times n = y \div W \times n$

（2）按血清（浆）等液体积计算：

丙酮酸含量（μg/mL）= $(y \times V_{样}) \div (V_{液} \times V_{样} \div V_{提取}) \times n = 10 \times y \times n$

（3）按照细菌或细胞数量计算：

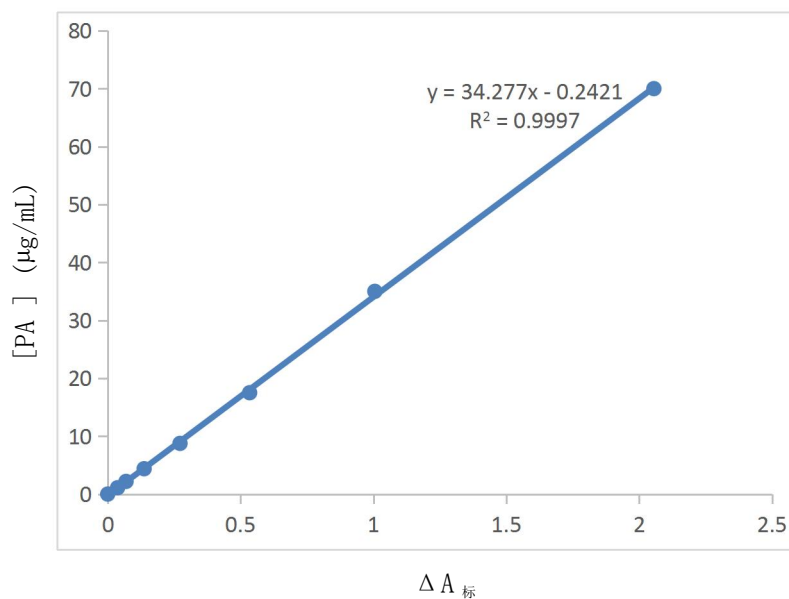
丙酮酸含量（μg/10⁴ Cells）= $(y \times V_{样}) \div (500 \times V_{样} \div V_{提取}) \times n = y \div 500 \times n$

$V_{样}$ ：加入的样本体积，0.075mL； $V_{提取}$ ：加入提取液体积，1mL；W：样本质量，g；n：稀释倍数； $V_{液}$ ：液体样本体积，0.1mL；500：细菌或细胞数量，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：

- PMK1120 己糖激酶 (HK) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1121 丙酮酸激酶 (PK) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1122 磷酸果糖激酶 (PFK) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1123 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (PEPC) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

