

L-乳酸测定试剂盒说明书

(货号: A019-2-2 酶法 微板法 96T)

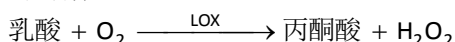
免责声明: 测试前请仔细阅读说明书, 预试后再进行批量实验, 否则由此导致的后果用户自行承担!

【试剂组成与配制】

试剂名称	规格装量	保存条件
试剂一	18mL	4℃避光
试剂二	6mL	4℃避光
试剂三: 标准品 (3mmol/L)	0.1mL	4℃
96孔平底酶标板	一块	室温

【测试原理】

乳酸氧化酶(LOX)氧化乳酸生成丙酮酸和过氧化氢, 过氧化氢与 4-氨基安替吡啉、对氯苯酚反应生成红色醌式染料, 此染料在 546nm 有最大吸收峰, 再通过标准品定标, 可计算样本中 L-乳酸含量。



【储存条件及有效期】

试剂盒 2~8℃ 保存, 有效期 1 年, 开封后请在 1 个月内使用。

【所需仪器及试剂】

可调 546nm (或上下相差 10nm 范围) 的酶标仪, 37℃ 恒温箱, 蒸馏水, 蛋白测定试剂 (组织或细胞样本用, 本公司有售)。

【样本前处理】

血清(浆)等液体样本: 可直接使用 (先预试确定是否要稀释);

动物组织样本: 准确称取组织重量, 按重量 (g): 体积 (mL) = 1:9 的比例加入 9 倍体积的生理盐水, 冰水浴条件下机械匀浆, 2500-4000 转/分, 离心 10 分钟, 取上清液 (该上清液需要测定其蛋白浓度, 蛋白测定试剂盒本公司有售) 待测;

细菌/细胞样本: 收集细菌或细胞到离心管中 (注意去除培养液), 每 500 万细菌或细胞可加入 0.5mLPBS (0.01M, pH 7.0-7.4), 超声破碎 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 运行 5 秒, 间隔 15 秒, 重复 5-10 次), 8000-12000 转/分, 离心 10 分钟, 取上清待测 (该上清需测定其蛋白浓度, 蛋白测定试剂盒本公司有售, 如不测蛋白则需在收集细胞后进行细胞计数)。

注: 以上样本获得后, 均需挑选 1-2 例进行预试, 以确定其是否浓度过高 (样本一般可以进行 2 倍、5 倍、10 倍的梯度稀释, 选择 ΔA 值与标准 ΔA 接近的那一孔对应的样本稀释倍数, 稀释样本后再进行正式实验)。

【操作步骤】

加入物 \ 孔别	测定孔	标准孔	空白孔
待测样本 (μL)	2.5		
标准液 (μL)		2.5	
蒸馏水 (μL)			2.5
试剂一 (μL)	180	180	180
轻轻振荡孔板混匀, 置 37℃ 保温 1-3 分钟, 酶标仪 546nm 处测定吸光度值 A1			
试剂二 (μL)	60	60	60
轻轻振荡孔板混匀, 37℃ 孵育 5 分钟, 546nm 波长下再次测定吸光度值 A2, 计算 $\Delta A = A2 - A1$			

(注: 空白孔、标准孔每批次只需做 1~3 个; ΔA 测定 > 0.5 时建议将样本稀释后再测, 或是选择 ΔA 测定在 0.1~0.2 间对应的样本浓度来检测)

【计算公式】

1、血清(浆)等液体样本计算:

$$\text{L-乳酸含量} (\text{mmol/L}) = \frac{\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}}{\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \times N$$

2、组织样本按重量计算:

$$\text{组织中L-乳酸含量} (\text{mmol/g组织}) = \frac{\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}}{\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \times N \div \frac{W}{V_{\text{样总}}}$$

3、组织(或细胞/细菌)样本按蛋白浓度计算:

$$\text{L-乳酸含量} (\text{mmol/g蛋白}) = \frac{\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}}{\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \times N \div C_{\text{pr}}$$

4、细菌/细胞按数量计算:

$$\text{细胞中L-乳酸含量} (\text{mmol}/10^4\text{细胞}) = \frac{\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}}{\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \times N \div \frac{\text{细胞数}}{V_{\text{样总}}}$$

上述公式中, $C_{\text{标准}}$ 为标准品浓度, 3mmol/L;

N 为样本测试前稀释倍数;

W 为组织重量, g;

$V_{\text{样总}}$ 为样本匀浆 (破碎) 时加入的提取液的体积, L;

C_{pr} 为匀浆液蛋白浓度, g 蛋白/L;

细胞数为细胞加入提取液后计数得到的总数量, 10^4 个。

【产品性能指标】

- ① 试剂盒检测限为 0.55 ~ 13mmol/L;
- ② 37℃, 1cm 光径时, 546nm 处, 空白孔 OD 值小于 0.3;
- ③ 精密度: 重复性 CV 不大于 5%, 批间差 R 不大于 8%;

【注意事项】

- ① 仅用于科研, 不用于体外诊断。
- ② 试剂一、二不可混合后使用。
- ③ 操作时样品与试剂量可根据需要按比例调节。
- ④ 不同批次的试剂不推荐混合使用。
- ⑤ 孔板操作时, 注意不要加入气泡。
- ⑥ 样本乳酸含量较低时, 可增加样本加入量 (如 5 μL 或 10 μL), 则空白孔蒸馏水量相应增加, 标准孔标准液则需稀释一定的倍数后与样本保持相同的加样量 (计算时标准品浓度因此而变, 变量代入公式计算)。