

# 丙酮酸测试盒说明书

(货号: A081-1-1 分光光度法 50 管/48 样)

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

## 一、测定原理:

丙酮酸与显色剂反应, 反应产物在碱性溶液中显红棕色, 颜色深浅与丙酮酸含量成正比, 通过比色可以测定出丙酮酸的含量。

## 二、试剂盒组成与试剂配制: (试剂盒有效期 6 个月)

**试剂一:** 澄清剂 10mL×1 瓶; 室温保存 (低温时会凝固, 使用时可 37℃ 融化后再用);

**试剂二:** 显色剂 50mL×1 瓶; 室温避光保存;

**试剂三:** 碱溶液 70mL×2 瓶; 室温保存;

**丙酮酸钠标准品 (2μmol/mL):** 1mL×1 支, 4℃ 保存; 使用时用蒸馏水按 1:9 比例稀释成 **0.2μmol/mL**

**丙酮酸钠标准液。**

## 三、所需仪器及试剂:

可见光分光光度计及 1cm 光径比色皿 (或酶标仪 (505nm) 及 96 孔板), 涡旋混匀器, 37℃ 水浴锅 (或恒温箱), 蒸馏水。

## 四、液体样本中丙酮酸含量测定操作:

1、**样本前处理:** 直接取样测定。

### 2、操作表:

试剂 (mL)	空白管	标准管	测定管
蒸馏水	0.1		
0.2μmol/mL 标准液		0.1	
待测样本			0.1
试剂二	0.5	0.5	0.5
混匀后, 37℃ 水浴准确反应 10 分钟			
试剂三	2.5	2.5	2.5
室温放置 5 分钟, 波长 505nm 处, 1cm 光径, 蒸馏水调零, 分光光度计测定各管吸光度值 A (或每管吸取 200μL 反应液加到 96 孔板中, 酶标仪 505nm 处读数)。			

### 3、计算公式:

$$\text{液体样本丙酮酸含量 } (\mu\text{mol/mL}) = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \times N$$

**C<sub>标准</sub>:** 标准液浓度, 0.2μmol/mL;

**N:** 样本测试前稀释倍数。

## 五、组织 (或细胞) 中丙酮酸含量测定操作:

### 1、组织样本前处理:

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 转/分, 离心 10 分钟, 取上清液测定。(取部分上清液测蛋白浓度, 蛋白定量试剂盒本公司有售)

### 2、细胞样本前处理:

收集细胞后, 每份细胞 (细胞数量尽量不要低于 10<sup>6</sup> 个, 越多越好) 加入 0.3mL 的生理盐水 (或者 PBS), 冰水浴下超声破碎 (功率 200-300W, 运行 5 秒, 间隔 15 秒, 反复 3-5 分钟), 4000 转/分离心 10 分钟, 取上清液待测 (上清液需要测定其蛋白浓度, 蛋白测定试剂盒本公司有售)。

### 3、操作表:

试剂 (mL)	空白管	标准管	测定管
蒸馏水	0.1		
0.2μmol/mL 丙酮酸标准液		0.1	
匀浆上清			0.1
试剂一	0.1	0.1	0.1
试剂二	0.5	0.5	0.5

混匀后, 37℃ 水浴准确反应 10 分钟			
试剂三	2.5	2.5	2.5
室温放置 5 分钟, 波长 505nm 处, 1cm 光径, 蒸馏水调零, 分光光度计测定各管吸光度值 A (或每管吸取 200μL 反应液加到 96 孔板中, 酶标仪 505nm 处读数)。			

## 4、计算公式:

### ①、组织 (或细胞) 样本按蛋白浓度计算公式:

$$\text{组织中丙酮酸含量 } (\mu\text{mol/mg 蛋白}) = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}$$

### ②、组织样本按样本质量计算公式:

$$\text{组织中丙酮酸含量 } (\mu\text{mol/g 组织}) = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \div \frac{W}{V_{\text{样总}}}$$

以上公式中:

**C<sub>标准</sub>:** 标准液浓度, 0.2μmol/mL。

**C<sub>pr</sub>:** 组织匀浆蛋白浓度, mg/mL。

**W:** 组织样本重量, g。

**V<sub>样总</sub>:** 样本匀浆时所加的匀浆介质的总体积, mL。