

L-乳酸测定试剂盒说明书

（货号：A019-2-2 酶法 微板法 96T）

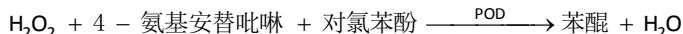
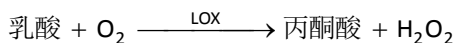
免责声明：测试前请仔细阅读说明书,预试后再进行批量实验,否则由此导致的后果用户自行承担!

【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（或有 536-556nm 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：以上样本处理后,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（**稀释液可用生理盐水或着 0.01M 的 PBS**）,选择ΔA 值与标准ΔA 接近的那一孔对应的样本稀释倍数,样本统一先稀释后再进行正式实验）。

【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		
3mmol/L 标准品（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 波长处测定吸光度值 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ΔA=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:

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

2、组织样本按重量计算:

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

3、组织（或细胞/细菌）样本按蛋白计算:

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

4、细菌/细胞按数量计算:

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

上述公式中,

$C_{\text{标准}}$ 为标准品浓度,3mmol/L(μmol/mL);

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）时加入的提取液的总体积, mL;

C_{pr} 为匀浆上清蛋白浓度, g/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 试剂盒仅用于科研, 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 5μL 或 10μL）, 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）。