

D-乳酸含量试剂盒(WST-8 法)

【产品简介】 ◆本试剂盒提供一种快速、灵敏的检测方法:D-乳酸在D-乳酸脱氢酶的作用下生成丙酮酸,并使NAD⁺还原生成NADH;为了使该反应顺利进行另添加酶进一步分解丙酮酸;生成NADH与特异显色剂反应产生在450nm处有最大吸收峰的有色物质,通过检测该物质在450nm的增加量,进而计算出D-乳酸含量。

【货号】 TMC029

【规格】 96T

【包装清单】

试剂名称	规格	保存条件	
提取液	液体120mL×1瓶	4℃	
试剂一	粉体mg×1支	4℃	用前甩几下或离心使试剂落入底部,再加2.1mL试剂三溶解备用。
试剂二	液体1.1mL×1瓶	4℃	
试剂三	液体20mL×1瓶	4℃	
试剂四	液体1mL×1支	4℃	
试剂五	液体uL×2支	-20℃	临用前甩几下使试剂落入底部,再加0.55mL蒸馏水溶解。
标准品	液体uL×1支	4℃	若重新做标曲,则用到该试剂

【保存条件】 4℃保存,有效期一年。

【操作步骤】 1、样本制备:

①组织样本:0.1g 组织样本,加1mL的提取液研磨,粗提液全部转移到EP管中,12000rpm,离心10min,上清液待测。

注:若增加样本量,可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例提取

②细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;取500万细菌或细胞加入1mL提取液;超声波破碎细菌或细胞(冰浴,功率20%或200W,超声3s,间隔10s,重复30次);于4℃,12000g离心10min,取上清测定。

注:若增加样本量,可按细菌/细胞数量(10⁴个):提取液(mL)为1000~5000:1的比例进行提取

③液体样品:

- a. 近似中性的液体样品可直接取1mL转移到EP管中;12000rpm, 离心10min, 上清液待测。
- b. 酸性液体样本, 则需先用KOH(5M)调溶液的PH值至约8, 并在室温下孵育30分钟。取1mL转移到 EP 管中;12000rpm, 离心10min, 上清液待测。
- ④血清样本:澄清的血清样本可以直接检测。

2、上机检测:

- ①酶标仪预热30min 以上, 调节波长至450nm。
- ②临用前试剂一、二、三、四可按照比例 20:10:130:10 混成混合液(用多少配多少量), 下步加样表中直接加170uL混合液。
- ③所有试剂解冻至室温(25℃)或在水浴锅(25℃)中孵育10min, 在96孔板中依次加入:

试剂名称(uL)	测定管	空白管(仅做一次)
样本	20	0
试剂一	20	20
试剂二	10	10
试剂三	130	150
试剂四	10	10
试剂五	10	10
混匀, 立即于37℃条件下避光反应30min, 于450nm 处读取吸光值A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		

- ④标准曲线结果计算①由标准品测定获得, 如需重制见随货说明书或咨询。

3、结果计算:

- ①标准曲线方程为 $y = 13.865x - 0.01$; x为标准品摩尔浓度(umol/mL), y为 ΔA 。

- ②按照样本质量计算:

$$D\text{-乳酸}(\text{umol/g鲜重}) = [(\Delta A + 0.01) \div 13.865 \times V_2] \div (W \times V_1 \div V) \times D$$

$$= 0.72 \times (\Delta A + 0.01) \div W \times D$$

- ③按照细菌/细胞计算:

$$D\text{-乳酸含量}(\text{umol}/10^4\text{cell}) = [(\Delta A + 0.01) \div 13.865 \times V_2] \div (500 \times V_1 \div V) \times D$$

$$= 0.72 \times (\Delta A + 0.01) \times D$$

- ④按照液体体积计算:

$$D\text{-乳酸含量}(\text{umol/mL}) = [(\Delta A + 0.01) \div 13.865 \times V_2] \div V_1 \times D$$

$$= 0.72 \times (\Delta A + 0.0119) \times D$$

- ⑤按照血清体积计算:

$$D\text{-乳酸含量}(\text{umol/mL}) = [(\Delta A + 0.01) \div 13.865 \times V_2] \div V_1 \times D$$

$$= 0.72 \times (\Delta A + 0.0119) \times D$$

V---加入提取液体积, 1mL; V1---加入反应体系中样本体积, 0.02mL;

V2---反应体系总体积, 0.2mL; W---样本质量, g;

500—细胞数目，万； D—稀释倍数，未稀释即为 1；
D-乳酸分子量Mr—90.08。

- 【注意事项】**
- 1、提取液有蛋白沉淀组分，样本不适合于蛋白含量测定。
 - 2、若样本较多可分批进行检测，确保组间反应时间一致。
 - 3、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
 - 4、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
-