

## D-乳酸 (D-LA) 检测试剂盒 (快速)

### 检测意义及原理:

乳酸(Lactic acid, LA)是生物体代谢过程中重要的中间产物,它与糖、脂类、蛋白质及细胞内能量代谢密切相关。乳酸根据其旋光性的不同,分为L-乳酸和D-乳酸两种。人体血液中D-乳酸的来源主要由胃肠道中的细菌产生,然后被吸收入血;少部分是人类细胞产生。人体血清中D-乳酸含量远低于L-乳酸,但是如果检测到升高,则会有发展为以神经功能障碍和脑病为特征的D-乳酸代谢性酸中毒倾向,因此临床意义重大。而导致D-乳酸升高的因素,常见的有肠道菌群失衡、短肠综合征或肠道功能异常及代谢性疾病或器官功能异常(如糖尿病、肝病、肾病等)等疾病。

本试剂盒采用紫外比色法在酶标板上操作,标准品和待测样品中的D-乳酸与显色液发生反应,在340nm处测OD值,D-乳酸含量与OD值成正比,可通过绘制标准曲线求出样品中D-乳酸浓度。

### 试剂盒特点:

- 线性范围宽:** 本试剂盒采用最新方法改良配方,可以检测到高达5mmol/L的D-乳酸。
- 简单快速:** 30min内即可完成。
- 大通量操作:** 本试剂盒反应敏感度适中,实验结果稳定,不会出现因为1~2min之时间差导致前后加样各组实验结果变化很大的情况。因此可一批次操作多个样本,从而提升实验效率。

### 试剂盒组分: (保存: 2-8℃避光, 有效期: 1年)

名称	规格 (48 T)	规格 (96 T)
紫外微孔板	8×6条	8×12条
D-乳酸标准品	20μL	20μL
提取液	50mL	100mL
底物液	10mL	20mL
反应液	20μL	40μL
催化剂	1支	2支
产品说明书	1份	1份

本试剂盒适用于血清、血浆、组织匀浆、细菌、细胞培养上清及其它样本。

### 需要自备试剂和器材:

- 酶标仪、离心机、匀浆器、天平、制冰机及实验室常规仪器。
- 多种规格单通道移液器。
- 不同规格的试管和离心管,加样槽、96孔板。
- 漩涡混匀器。
- 去离子水或蒸馏水。

### 标本收集:

- 组织标本:** 将组织块用PBS漂洗干净,按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例(建议称取约0.1g组织,加入1mL提取液)进行冰浴匀浆,12000g 4℃离心10min,取上清混匀后置冰上待测。

2. **细菌或细胞标本：**按细胞数量（10<sup>4</sup>个）：提取液体积（mL）为500~1000:1的比例（建议500万细胞加入0.5mL提取液）重悬浮细胞，冰浴超声波破碎细胞（功率300w，超声3秒，间隔7秒，总时间3min）；12000g 4℃离心10min，取上清液置冰上待测。

3. **血清等液体标本：**应使用一次性的无热原，无内毒素试管（EDTA、柠檬酸盐、肝素抗凝均可），血清、血浆避免使用溶血，高血脂标本，标本悬浮物应离心去除，使标本清澈透明，液体样品直接检测。

**备注：**待测样本应尽早检测，2-8℃保存一周；更长时间须冷冻（-20℃或-80℃）保存，避免反复冻融。

## 试剂准备：

### 1. 标准品的配置：

A, **D-乳酸标准液配制：**取5μL 1M D-乳酸标准品用995μL的提取液稀释，即得5mM D-乳酸标准液。

B, **标准液浓度梯度配制：**如下图操作

组别	blank	S1	S2	S3	S4	S5	S6
D-乳酸标准液 (μL)	0	1	2	4	8	16	32
提取液 (μL)	32	31	30	28	24	16	0
稀释后D-乳酸浓度 (μmol/L)	0	156.25	312.5	625	1250	2500	5000

**注意：**1, 样品在什么溶液中，标准品也需用什么溶液稀释，这样可以减小误差。

2, 初次测定后知道样品的浓度范围后，可以对标准品在样品浓度范围附近密集测定。

2. **显色液的配置：**取一支装有催化剂的15mL棕色离心管，加入10mL底物液和12μL反应液，混匀即得显色液。

**注意：**每次实验，请使用新配制的显色液；配制好的显色液需要在3d之内使用。

## 检测程序：

1. 加待测样本：将配置好的标准液及待测样品各取20μL加入到紫外微孔板中。
2. 加显色溶液：每个标准液及待测样品孔内加入显色液200μL，混匀。
3. 孵育及读数：将上述紫外微孔板即刻放入酶标仪中，室温孵育25min；在340nm处读OD值。

## 结果判断与计算：

1. 所有OD值建议减除空白孔值后再进行计算，如空白孔OD低于0.1，也可以直接计算。
2. 以标准品浓度作横坐标，OD值作纵坐标，手工绘制或用软件绘制标准曲线，根据样品OD值计算出相应含量，再乘以稀释倍数即可。

## 注意事项

1. 请自备1.5mL离心管及离心管架等常规检测设备及仪器。
2. 正式测定之前选择2~3个预期差异大的样本做预测定，以熟悉实验流程。
3. 检测时所有试剂都要恢复到室温，试剂盒开封后剩余试剂放回袋中1个月内用完。
4. 实验前请认真仔细阅读此说明书，说明书以试剂盒内纸质版为准。
5. 血清抗凝剂用肝素钠-氟化钠较好，不可用草酸抗凝剂。
6. 本试剂盒仅用于科研，不能用于临床诊断！
7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性口罩和手套操作。



## 相关文献:

1: Low expression of dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing nonintegrin in non-Hodgkin lymphoma and a significant correlation with b2-microglobulin

Med Oncol (2014) 31:202 DOI 10.1007/s12032-014-0202-6.

2: APRIL promotes non-small cell lung cancer growth and metastasis by targeting ERK1/2 signaling

Oncotarget, 2017, Vol. 8, (No. 65), pp: 109289-109300

3: Knockdown of SALL4 inhibits the proliferation, migration, and invasion of human lung cancer cells in vivo and in vitro

Ann Transl Med 2020;8(24):1678 | <http://dx.doi.org/10.21037/atm-20-7939>

4: NF90 stabilizes cyclin E1 mRNA through phosphorylation of NF90-Ser382 by CDK2

Ding et al. Cell Death Discovery (2020) 6:3 <https://doi.org/10.1038/s41420-020-0236-9>.

注: 更多使用本产品的文献请参考威奥生物官网。