

L-乳酸 (L-LA) 检测试剂盒 (快速, 1 μ L样本)

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,因此乳酸含量是评估糖原代谢和有氧代谢的重要指标。乳酸根据其旋光性的不同,分为L-乳酸和D-乳酸两种,其中真核生物体内主要是L-乳酸。L-乳酸含量的异常升高与组织缺氧、肝损伤、糖尿病和恶性肿瘤等多种疾病密切相关。

本试剂盒采用可见光比色法在酶标板上操作,标准品和待测样品中的L-乳酸与显色液发生反应,在462nm处测OD值,L-乳酸含量与OD值成正比,可通过绘制标准曲线求出样品中L-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,L-乳酸浓度在高达80mmol/L的范围内都呈线性相关。
- 样品用量少:** 每组样品只需要1 μ L的量即可完成精准检测。
- 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3~5min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 $^{\circ}$ C避光, 有效期: 6个月)

名称	规格 (48 T)	规格 (96 T)
微孔板	8 \times 6条	8 \times 12条
L-乳酸标准品	2mL	2mL
提取液	50mL	100mL
底物液	15mL	30mL
反应液	30 μ L	60 μ L
催化剂 (-20 $^{\circ}$ C保存)	2mL	2mL
增强液 (-20 $^{\circ}$ C保存)	10 μ L	20 μ L
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 $^{\circ}$ C离心10min,取上清混匀后置冰上待测。
- 细菌或细胞标本:** 按细胞数量(10⁴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. 标准品的配制:

A, L-乳酸标准液配制: 取10μL L-乳酸标准品加入到1583μL提取液中,混匀即得80mmol/L L-乳酸标准工作液。

B, 标准液浓度梯度配制: 如下图操作

组别	blank	S1	S2	S3	S4	S5	S6
L-乳酸标准工作液(μL)	0	1	2	4	8	16	32
提取液(μL)	32	31	30	28	24	16	0
稀释后L-乳酸浓度(mmol/L)	0	2.5	5	10	20	40	80

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. **显色液的配制:** 在底物液中,加入反应液和增强液(48T试剂盒的分别加入22μL和3μL,96T试剂盒的分别加入44μL和6μL),混匀;然后将催化剂全部倒入此溶液中,并冲洗2~3次装催化剂的试管内壁,充分混匀即得显色液。

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4℃保存,并于1d之内使用。

检测程序:

- 加显色溶液: 每个标准液及待测样品酶标孔内加入显色液300μL。
- 加待测样本: 将配制好的标准液及待测样品各取1μL加入到上述微孔板中,混匀。
- 孵育及读数: 将上述微孔板即刻放入37℃预热的酶标仪(或37℃温育箱)中,孵育30min;在462nm处读OD值。

结果判断与计算:

- 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。
- 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

- 请自备1.5mL离心管及离心管架等常规检测设备及仪器。
- 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。
- 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。
- 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。
- 血清抗凝剂用肝素钠-氟化钠较好,不可用草酸抗凝剂。
- 本试剂盒仅用于科研,不能用于临床诊断!
- 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。