L-乳酸（L-LA）含量测定试剂盒说明书

规格：48 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。

2. 本试剂盒仅用于科研。

3. 正式检测前选取 2~3 个预期差异较大的样本上清进行预检测。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
提取液	55 mL×1	4℃	
试剂一	2 mL×1	4℃	
试剂二	3 mL×1	4℃	
试剂三	粉剂×1	-20℃避光	临用前加入 2 mL 蒸馏水充分溶解，分装后-20℃保存 4 周，避免反复冻融。
试剂四	粉剂×1	4℃避光	临用前加入 5 mL 蒸馏水充分溶解，分装后-20℃保存 4 周，避免反复冻融。
试剂五	粉剂×1	4℃避光	
标准品	1 mL×1	4℃	

标准品的浓度为 2 mmol/L L-乳酸。

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、水浴锅/恒温培养箱、超声破碎仪、研钵/匀浆器。

四、样品制备

1. 细菌、细胞或组织样品的制备

细菌或培养细胞：收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细胞数量（10^4 个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL

提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3 min）；于 4℃，12000 g 离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

组织：按照质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0 .1g，加入 1 mL 提取液）加入提取液，冰浴匀浆后 12000 g 常温离心 10 min 置于冰上，上清为待测样本。

2. 液体样品：直接测定。

五、测定步骤

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 530 nm 处。

2. 显色液配制：使用前取一管试剂五加入 1.5 mL 提取液、0.45 mL 试剂三(溶解后的)和 4.5 mL 试剂四(溶解后的)，共 6.45 mL，约 52 样，请上下颠倒确保管盖上的粉剂充分溶解，现配现用。

3. 在 96 孔板中依次加入（加入下列试剂时确保准确，降低误差）：

试剂名称	样品对照管	样品测定管	标准对照管	标准测定管
样本（μL）	10	10	-	-
标准品（μL）	-	-	10	10
超纯水（μL）	100	90	100	90
试剂一（μL）	30	-	30	-
试剂二（μL）	-	40	-	40
显色液（μL）	60	60	60	60
充分混匀，置于 37℃水浴锅/恒温培养箱避光反应 30 min 后，于 530 nm 波长处读取吸光度，分别记为 A1、A2、A3 和 A4。ΔA 样=A2-A1；ΔA 标=A4-A3。**注意：标准对照管和标准测定管只需测 2~3 次；每个样品测定管设 1 个样品对照管。**				

六、计算：

1. 按照血清（浆）体积计算

L-乳酸含量（μmol/mL）=ΔA样÷ΔA标×C标=2×ΔA样÷ΔA标

2. 按照蛋白浓度计算**（需另外测蛋白浓度）**

L-乳酸含量（μmol/mg prot）=ΔA样÷ΔA标×C标÷Cpr=2×ΔA样÷ΔA标÷Cpr

3. 按照样本质量计算

L-乳酸含量（μmol/g 鲜重）=ΔA样÷ΔA标×C标÷W×V=2×ΔA样÷ΔA标÷W×V

4. 按照细菌或细胞密度计算

L-乳酸含量（μmol/10^4 cell)=ΔA样÷ΔA标×C标÷细胞数量（百万）=2×ΔA样÷ΔA标÷细胞数量（百万）

C 标：标准品浓度，2 μmol/mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；V：样本总体积，1 mL。

七、产品简介

乳酸是生物体代谢过程中重要的中间产物，与糖代谢、脂类代谢、蛋白质代谢及细胞内能量代谢密切相关，乳酸含量是评估糖元代谢的和有氧代谢的重要指标。