L-乳酸（L-LA）含量测定试剂盒说明书

规格：96 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	110 mL×1	4℃	
试剂一	3 mL×1	4℃	
试剂二	5 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 10 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×2	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。