

# D-乳酸（D-LA）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1921

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/24S 96T/48S

检测范围：15.6-1000μM 灵敏度：7.8μM

适用样本：动植物组织、细胞、细菌、血清（浆）或其他液体

## 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。乳酸实际上存在两种光学异构体：D-乳酸和 L-乳酸。L-乳酸在人类和哺乳动物中含量更丰富，其在血液中的浓度是 D-乳酸的 100 倍。D-乳酸主要由某些细菌（如乳酸杆菌、大肠杆菌）发酵产生。人体对 D-乳酸的代谢能力有限，正常情况下，人体内的 D-乳酸含量甚微，D-乳酸在体内积累可引发 D-乳酸酸中毒，表现为神经功能障碍和脑病。本试剂盒提供了一种检测生物样品中 D-乳酸的便捷方法。在该试剂盒中，D-乳酸盐在 D-乳酸脱氢酶的作用下生成丙酮酸，同时使 NAD<sup>+</sup>还原生成 NADH，可与四唑盐 WST-8 染料反应，形成与样本中的 D-乳酸盐浓度成正比例的有色产物，其在 450nm 处有最大吸收峰，据此可计算 D-乳酸含量。由于 D-乳酸脱氢酶的特异性，L-乳酸不会造成干扰。

## 产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃
反应缓冲液	7.5mL	15mL	4℃
试剂一	60 μL	120 μL	-20℃
试剂二	1.5mL	3mL	-20℃
试剂三	750 μL	1.5mL	4℃，避光保存
D-乳酸标准品（10mM）	50 μL	100 μL	-20℃

## 自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 450nm 处的吸光度）

恒温箱、制冰机、低温离心机

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

去离子水

10kDa MW 超滤管、匀浆器（如果是组织样本）

## 试剂准备

**注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。**

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

反应缓冲液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂一：使用时，用反应缓冲液进行 1:20 稀释，整个实验过程中，冰上避光放置。现用现配，用多少配多少；保存于-20℃。

试剂二：即用型；整个实验过程中，冰上放置；分装保存于-20℃。

试剂三：即用型；整个实验过程中，冰上避光放置；4℃，避光保存。

## 产品说明书

测定工作液：测定孔、标准孔和空白孔，每孔准备 155 $\mu$ L 测定工作液，现配现用：吸取 91 $\mu$ L 反应缓冲液，24 $\mu$ L 试剂二，10 $\mu$ L 试剂三，和 30  $\mu$ L 稀释后的试剂一混合均匀。

对照工作液：对照孔每孔准备 155 $\mu$ L 对照工作液，现配现用：吸取 121 $\mu$ L 反应缓冲液，24 $\mu$ L 试剂二，10 $\mu$ L 试剂三。

D-乳酸标准品 (1000 $\mu$ M)：10mM D-乳酸标准品分装保存于-20 $^{\circ}$ C。取 10mM D-乳酸标准品用提取液 1:10 稀释，建议取 50  $\mu$ L 10mM 乳酸标准品，加 450  $\mu$ L 提取液稀释至 1000 $\mu$ M，混合均匀。

标准曲线设置：按下表所示，用提取液将 1000 $\mu$ M 标准品稀释为 1000、500、250、125、62.5、31.25、15.6 $\mu$ M 的标准溶液。

	标准品体积 ( $\mu$ L)	提取液体积 ( $\mu$ L)	标准品浓度 ( $\mu$ M)
Std. 1	400 $\mu$ L 1000 $\mu$ M	0	1000
Std. 2	200 $\mu$ L of Std. 1	200	500
Std. 3	200 $\mu$ L of Std. 2	200	250
Std. 4	200 $\mu$ L of Std. 3	200	125
Std. 5	200 $\mu$ L of Std. 4	200	62.5
Std. 6	200 $\mu$ L of Std. 5	200	31.25
Std. 7	200 $\mu$ L of Std. 6	200	15.6

### 样本制备

动植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，12,000g，4 $^{\circ}$ C 离心 10min，取上清液，通过 10kDa MW 超滤管过滤（12000g，4 $^{\circ}$ C 离心 10 min），取滤液，以去除所有蛋白质，置冰上待测。

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞或细菌，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 12,000g，4 $^{\circ}$ C 离心 10min，取上清液，通过 10kDa MW 超滤管过滤（12000g，4 $^{\circ}$ C 离心 10 min），取滤液，以去除所有蛋白质，置冰上待测。

血清、血浆或其它生物学液体：通过 10kDa MW 超滤管过滤（12000g，4 $^{\circ}$ C 离心 10 min），取滤液，以去除所有蛋白质，置冰上待测。

**注意：建议使用新鲜样本。如果不立即使用，可将样品在-80 $^{\circ}$ C下保存一个月。**

### 实验步骤

- 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 450nm，可见光分光光度计去离子水调零。
- 操作表（下述操作在 96 孔板或微量玻璃比色皿中操作）：

试剂 ( $\mu$ L)	空白孔	标准孔	测定孔	对照孔
样本	0	0	50	50
标准品	0	50	0	0
提取液	50	0	0	0
测定工作液	150	150	150	0
对照工作液	0	0	0	150

- 混匀后，37 $^{\circ}$ C 避光孵育 30min，测定 450nm 处吸光度，空白孔记为  $A_{\text{空}}$ ，标准孔记为  $A_{\text{标}}$ ，测定孔记为  $A_{\text{测}}$ ，对照孔记为  $A_{\text{对}}$ 。计算  $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测}} - A_{\text{对}}$ ， $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标}} - A_{\text{空}}$ （空白和标准曲线只需做 1 次）。

**注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果  $\Delta A_{\text{测}}$  小于 0.001 可适当加大样本量。如果  $\Delta A_{\text{测}}$  大于 1.0，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。**

### 结果计算

- 标准曲线的绘制

## 产品说明书

以标准溶液浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标}}$  为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。

### 2. D-乳酸含量的计算

将样本的  $\Delta A_{\text{测}}$  代入方程得到 y 值（ $1\mu\text{M}=1\text{nmol/mL}$ ）。

#### （1）按样本鲜重计算

$$\text{D-乳酸含量 (nmol/g 鲜重)} = y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div W \times n$$

#### （2）按样本体积计算

$$\text{D-乳酸含量 (nmol/mL)} = y \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \times n = y \times n$$

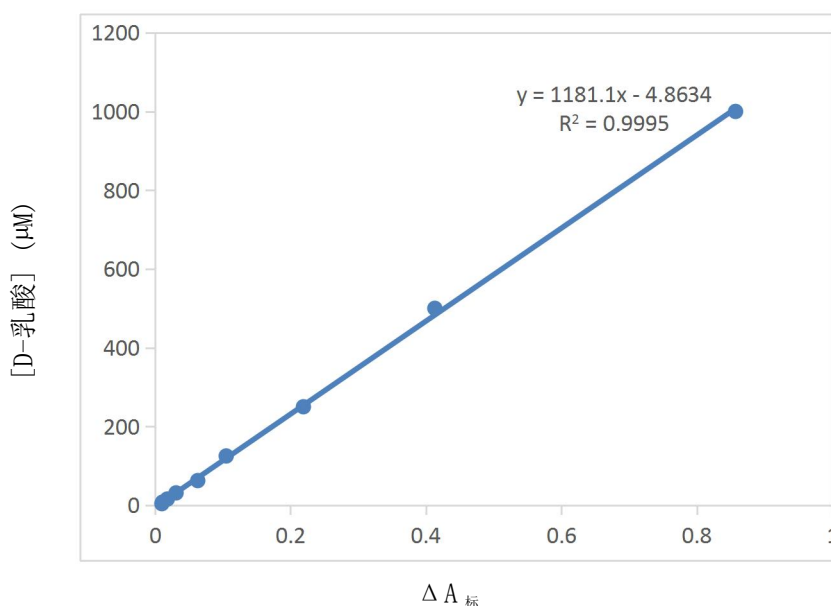
#### （3）按细胞或细菌数目计算

$$\text{D-乳酸含量 (nmol/10}^4 \text{ cells)} = y \times V_{\text{样}} \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div 500 \times n = 0.002 \times y \times n$$

$V_{\text{样}}$ : 加入样本体积, 0.05mL;  $W$ : 样本质量, g;  $V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积, 1mL;  $n$ : 样本稀释倍数; 500: 细胞或细菌数量, 500 万。

## 结果展示

典型标准曲线-以下数据和曲线仅供参考，实验者需根据自己的实验建立标准曲线。



## 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品：

- PMK1115 L-乳酸（L-LA）检测试剂盒（微量法）
- PMK1001 乳酸脱氢酶（LDH）检测试剂盒（微量法）
- PMK1116 丙酮酸（PA）检测试剂盒（微量法）
- PMK1110 丙酮酸脱氢酶（PDH）检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

