

丙酮酸检测试剂盒 (100T)

说明

丙酮酸是代谢中的中心分子，其通过多种代谢途径进行使用和合成，其中包括糖酵解和丙氨酸的氨基转移作用。丙酮酸可在柠檬酸循环中进一步氧化，在糖异生期间转化为碳水化合物，或还原为乳酸。高水平的丙酮酸与肝脏疾病和遗传性疾病有关。丙酮酸也被用于刺激代谢，从而导致体重减轻。本试剂盒的测试方法是使用单一工作试剂将丙酮酸氧化和过氧化氢的检测一次性完成。在波长为 570nm 检测的颜色强度或 $\lambda_{em}/ex = 585/530nm$ 处的荧光强度与样品中丙酮酸浓度成正比，检测范围：比色法 2 - 500 μM ，荧光法 0.2 - 50 μM 丙酮酸。

应用

适用于测定各种生物样品（如血液、组织和培养细胞）中的丙酮酸含量。

试剂盒组成与保存：

混合酶： 10 mL -20°C 保存
显色剂： 120 μL -20°C 保存
标准品： 400 μL 25 mM -20°C 保存

比色法检测步骤

注意：含巯基的试剂（如巯基乙醇，DTT），可能干扰该测试方法，应在样品制备中避免使用。

1. 将所有试剂放至室温。配备 500 μM 混合试剂：将 10 μL 25 mM 标准品和 490 μL 水混匀。按照下表比例，用蒸馏水稀释标准品。

标号	标准品 + H ₂ O	终量(μL)	丙酮酸 (μM)
1	100 μL + 0 μL	100	500
2	80 μL + 20 μL	100	400
3	60 μL + 40 μL	100	300
4	40 μL + 60 μL	100	200
5	30 μL + 70 μL	100	150
6	20 μL + 80 μL	100	100
7	10 μL + 90 μL	100	50
8	0 μL + 100 μL	100	0

取透明平底 96 孔板，分别将 10 μL 不同浓度的标准品和 10 μL 样本放入各孔中。

2. 在洁净的试管中，将 94 μL 混合酶和 1 μL 显色剂混匀。向每个孔中加入 90 μL 反应试剂并轻敲使其混匀。

3. 室温下培养 30 分钟，在 570nm 处读取光密度。意：若 OD 样品大于 OD 标准品，需用水稀释样本并重复检测，结果需乘以稀释系数。

浓度计算

用标准品的 OD 值减去水空白值（标号 8），对标准品浓度作图并得出斜率。样品的丙酮酸浓度计算如下：

$$\text{丙酮酸浓度} = \frac{\text{OD}_{\text{样品}} - \text{OD}_{\text{水}}}{\text{斜率}} (\mu M)$$



荧光法检测步骤

对于荧光测试法，检测范围为0.2至50 μ M丙酮酸。将比色法下准备的标准品按1：10的比例用水稀释。将10 μ L标准品和10 μ L样品分别加入不同的黑色平底96板孔中。加入90 μ L工作试剂 (见比色法步骤)并轻敲使其混合。室温下培育30分钟，在 $\lambda_{ex} = 530\text{nm}$ 和 $\lambda_{em} = 585\text{nm}$ 处读取荧光强度。如果在384孔板中检测，则使用5 μ L 标准品和45 μ L工作试剂。丙酮酸样品浓度的计算方法：

$$\text{丙酮酸浓度} = \frac{F_{\text{样品}} - F_{\text{水}}}{\text{斜率}} \quad (\mu\text{M})$$

注意事项： 本产品仅供研究用，使用过程中应严格遵循实验安全措施。