L-乳酸检测试剂盒

货号：RS050

存储条件：所有试剂-20℃保存

产品说明：

乳酸是由乳酸脱氢酶在缺氧和无氧条件下生成的，因此，乳酸水平是反应组织氧需求和利用平衡的良好指标，适用于细胞和 动物生理学研究。 简单、直接和自动化的乳酸浓度检测法极受欢迎。L-乳酸检测试剂盒的检测原理是乳酸脱氢酶催化乳酸氧化过程中形成的 NADH 可还原甲臜(MTT)试剂，产物颜色的强度（在 565nm 处测量）与样品中的乳酸浓度成正比。检测范围：0.08～2 mM 乳酸，对于含有酚红的细胞培养物样品，检测范围为 0.1 mM ～1 mM 乳酸。

适用性：

适用于血清、血浆和细胞培养基样品中的乳酸含量测定

试剂盒组成和保存：

缓冲液:10 mL ； NAD 试剂:1 mL

酶 A:120μl；酶 B:120μl； MTT 试剂:1.5 mL；

标准品：1 mL 20 mM

检测步骤：

注意：该测试是基于酶动力学反应，加入工作试剂应迅速并短暂混合。推荐使用多通道移液器。

1. 标准曲线

将 100μl 20 mM 标准品与 900μl 蒸馏水混合制备 1000μl 2 mM 的 L-乳酸预混液。对于含有酚红的细胞培养物样品，将 50μl 20mM 标准品与无血清的 950μl 培养基混合制备 1000μl 1 mM 乳酸预混液。稀释标准品如下：

标号	预混液+水或培养基	Vol (μl)	L-乳酸(mM)
1	100μl+ 0μl	100	2.0 or 1.0
2	80μl+ 20μl	100	1.6 or 0.8
3	60μl+ 40μl	100	1.2 or 0.8
4	40μl+ 60μl	100	0.8 or 0.4
5	30μl + 70μl	100	0.6 or 0.3
6	20μl+ 80μl	100	0.4 or 0.2
7	10μl+ 90μl	100	0.2 or 0.1
8	0μl+ 100μl	100	0

标品孔：转移 20μl 标准品至透明平底 96-孔板的孔内，可根据需要设置复孔。

样品孔：添加 20μl 样品到不同的孔内。对于潜在含有活性酶的样品(如血清，血浆，组织提取物)，应设置两组不同反应：一组加入酶试剂 A，而另一组作为对照不加酶试剂 A。血清和血浆在检测前应该用蒸馏水至少稀释 2 倍。

2. 反应试剂制备（推荐现用现配）

移液前短暂离心酶试剂管。

①每个反应孔按 60μl 缓冲液, 1μl 酶 A, 1μl 酶 B, 8μl NAD 和 14μl MTT 的比例配制足量反应试剂。

②对无酶试剂 A 的样品对照组，按照 60μl 缓冲液, 1μl 酶 B, 8μl NAD 和 14μl MTT 配制反应试剂。

3. 混合反应

迅速向每个标准品孔和样本孔添加 80μl 反应试剂，轻敲孔板使其混合。

4. 测定 OD 值

读取时间为 0 min 的光密度(565nm)，及在 20 min 培养后的光密度。

5. 计算

分别从标准品和样品的测值 OD_{20} 中减去 OD_0。对照标准曲线计算样品中乳酸的浓度。对于需对照的样品（不含酶试剂 A），需从$\triangle$OD 样本减去$\triangle$OD 无酶 A，用$\triangle\triangle$OD 值测定样品 L-乳酸浓度。

注意：如果样品的 OD 值比 2 mM L-乳酸标准品 OD 值高，需用水稀释样品并再次测定，结果乘以稀释倍数

注意事项：

1.本产品仅供研究用，使用过程中应严格遵循实验安全措施。

2.样品制备过程中应避免使用下列干扰物质:抗坏血酸,SDS (>0.2%)，叠氮化钠，NP-40(>1%)和 Tween-20(>1%)。