L-乳酸检测试剂盒 (50T)

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：5 mL　NAD试剂： 0.5 mL　酶A：60 μL　酶B：60 μL　MTT 试剂：0.75 mL　标准品：1 mL 20 mM

储存：所有试剂-20°C保存。

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要短暂混合。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1000 μL 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1000 μL 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 0.6
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

转移20 μL标准品至透明平底96-孔板的孔内。

样品: 添加 20 μL 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：移液前短暂离心酶试剂管。每个反应孔按60 µL 缓冲液, 1 µL酶A, 1 µL酶B, 8 µL NAD 和 14 µL MTT的比例配制足量反应试剂。推荐现用现配。对无酶试剂A的样品对照组，按60µL缓冲液, 1µL酶B, 8µL NAD 和14µL MTT配置反应试剂。

3. 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. 读取时间为零分钟的光密度(565nm)，及在20分钟培养后的光密度。

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$\Delta OD_{样本}$减去$\Delta OD_{无酶A}$，用$\Delta\Delta OD$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测，结果乘以稀释系数。

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%)。