

## L-乳酸检测试剂盒 (100T)

### 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：120  $\mu$ L    酶B：120  $\mu$ L    MTT试剂：1.5 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100 $\mu$ L 20 mM标准品与900 $\mu$ L蒸馏水混合制备1000  $\mu$ L 2 mM的L-乳酸预混液。对于含有酚红的细胞培养物样品，将50 $\mu$ L 20mM标准品与无血清的950 $\mu$ L培养基混合制备1000  $\mu$ L 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 ( $\mu$ L)	L-乳酸(mM)
1	100 $\mu$ L + 0 $\mu$ L	100	2.0 or 1.0
2	80 $\mu$ L + 20 $\mu$ L	100	1.6 or 0.8
3	60 $\mu$ L + 40 $\mu$ L	100	1.2 or 0.6
4	40 $\mu$ L + 60 $\mu$ L	100	0.8 or 0.4
5	30 $\mu$ L + 70 $\mu$ L	100	0.6 or 0.3
6	20 $\mu$ L + 80 $\mu$ L	100	0.4 or 0.2
7	10 $\mu$ L + 90 $\mu$ L	100	0.2 or 0.1
8	0 $\mu$ L + 100 $\mu$ L	100	0

转移20  $\mu$ L标准品至透明平底96-孔板的孔内。

样品: 添加 20  $\mu$ L 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  $\mu$ L 缓冲液，1  $\mu$ L酶A，1  $\mu$ L酶B，8  $\mu$ L NAD 和 14  $\mu$ L 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60 $\mu$ L缓冲液，1 $\mu$ L酶B，8 $\mu$ L NAD 和14 $\mu$ L MTT配置反应试剂。

3. 迅速向每个标准品孔和样本孔添加80 $\mu$ L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。

## RS100

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%)。