

## L-乳酸 (L-LA) 检测试剂盒 (快速)

### 检测意义及原理:

乳酸(Lactic acid, LA)是生物体代谢过程中重要的中间产物,它与糖、脂类、蛋白质及细胞内能量代谢密切相关,因此乳酸含量是评估糖原代谢和有氧代谢的重要指标。乳酸根据其旋光性的不同,分为L-乳酸和D-乳酸两种,其中真核生物体内主要是L-乳酸。L-乳酸含量的异常升高与组织缺氧、肝损伤、糖尿病和恶性肿瘤等多种疾病密切相关。

本试剂盒采用紫外比色法在酶标板上操作,标准品和待测样品中的L-乳酸与显色液发生反应,在342nm处测OD值,L-乳酸含量与OD值成正比,可通过绘制标准曲线求出样品中L-乳酸浓度。

### 试剂盒特点:

- 灵敏度高**: 本试剂盒采用最新方法改良配方,可以检测到低达0.3mmol/L的L-乳酸。
- 简单快速**: 30-45min内即可完成。
- 大通量操作**: 本试剂盒反应敏感度适中,实验结果稳定,不会出现因为1~2min之时间差导致前后加样各组实验结果变化很大的情况。因此可一批次操作多个样本,从而提升实验效率。

### 试剂盒组分: (保存: 2-8°C避光, 有效期: 1年)

名称	规格 (48 T)	规格 (96 T)
紫外微孔板	8×6 条	8×12 条
L-乳酸标准品	1 支	1 支
提取液	50mL	100mL
底物液	10mL	20mL
反应液	1 支	1 支
催化剂	1 支	2 支
产品说明书	1 份	1 份

本试剂盒适用于血清、血浆、组织匀浆、细菌、细胞培养上清及其它样本。

### 需要自备试剂和器材:

- 酶标仪、离心机、匀浆器、天平、制冰机及实验室常规仪器。
- 多种规格单通道移液器。
- 不同规格的试管和离心管,加样槽。
- 漩涡混匀器。

5. 去离子水或蒸馏水。

## 标本收集：

- 组织标本：**将组织块用PBS漂洗干净，按照组织质量 (g)：提取液体积 (mL) 为 1:5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液）进行冰浴匀浆，12000g 4℃ 离心 10min，取上清混匀后置冰上待测。
- 细菌或细胞标本：**按细胞数量 (10<sup>4</sup>个)：提取液体积 (mL) 为 500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 0.5mL 提取液）重悬浮细胞，冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min）；12000g 4℃ 离心 10min，取上清液置冰上待测。
- 血清等液体标本：**应使用一次性的无热原，无内毒素试管（EDTA、柠檬酸盐、肝素抗凝均可），血清、血浆避免使用溶血，高血脂标本，标本悬浮物应离心去除，使标本清澈透明，液体样品直接检测。

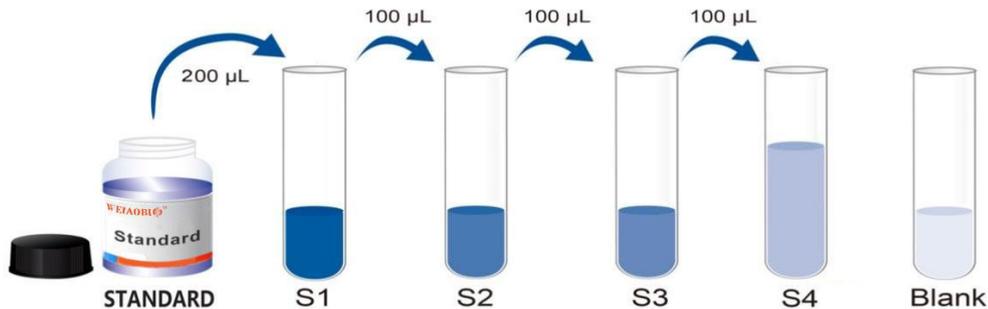
备注：待测样本应尽早检测，2-8℃ 保存一周；更长时间须冷冻（-20℃ 或 -80℃）保存，避免反复冻融。

## 试剂准备：

### 1. 标准品的配置：

**A, L-乳酸标准液配制：**取 5μL 1M L-乳酸标准品用 995μL 的提取液稀释，即得 5mM L-乳酸标准液。

**B, 标准液浓度梯度配制（用户可以不）：**取 5 个 1.5mL 离心管，分别标注 S1, S2, S3, S4, blank。S2, S3, S4, blank 这 4 管中各加入提取液 100μL；第一管 S1 中加入 5mM L-乳酸标准工作液 200μL，吸 100μL 移至第二管，置于漩涡混合器上混匀后用加样器吸 100μL 移至第三管，如此反复作对倍稀释至 S4，第 5 管为空白对照，只加提取液。这样 S1, S2, S3, S4, blank 这 5 管标准品浓度分别为：5、2.5、1.25、0.625、0mM。



注意：1, 样品在什么溶液中，标准品也需用什么溶液稀释，这样可以减小误差。

2, 初次测定后知道样品的浓度范围后，可以对标准品在样品浓度范围附近密集测定。

- 显色液的配置：**取一支试剂盒里带有催化剂标签的棕色 EP 管，加入 10mL 底物液和 12.8μL 反应液，混匀即得显色液。

注意：每次实验，请使用新配制的显色液；配制好的显色液需要在 3d 之内使用。

## 检测程序：

- 酶标仪预热：**打开酶标仪，37℃ 预热 30min。
- 加待测样本：**将配置好的标准液及待测样品各取 20μL 加入到紫外微孔板中。

3. 加显色溶液：每个标准液及待测样品孔内加入显色液 200 $\mu$ L，混匀。
4. 孵育及读数：将上述紫外微孔板即刻放入酶标仪中，升温到 37 $^{\circ}$ C 时开始计时，孵育 30min；在 342nm 处读 OD 值。

### 结果判断与计算：

1. 所有 OD 值建议减除空白孔值后再进行计算，如空白孔 OD 低于 0.1，也可以直接计算。
2. 以标准品浓度作横坐标，OD 值作纵坐标，手工绘制或用软件绘制标准曲线，根据样品 OD 值计算出相应含量，再乘以稀释倍数即可。

### 注意事项

1. 请自备 1.5mL 离心管及离心管架等常规检测设备及仪器。
2. 正式测定之前选择 2~3 个预期差异大的样本做预测定，以熟悉实验流程。
3. 检测时所有试剂都要恢复到室温，试剂盒开封后剩余试剂放回袋中 1 个月内用完。
4. 实验前请认真仔细阅读此说明书，说明书以试剂盒内纸质版为准。
5. 血清抗凝剂用肝素钠-氟化钠较好，不可用草酸抗凝剂。
6. 本试剂盒仅用于科研，不能用于临床诊断！
7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性口罩和手套操作。