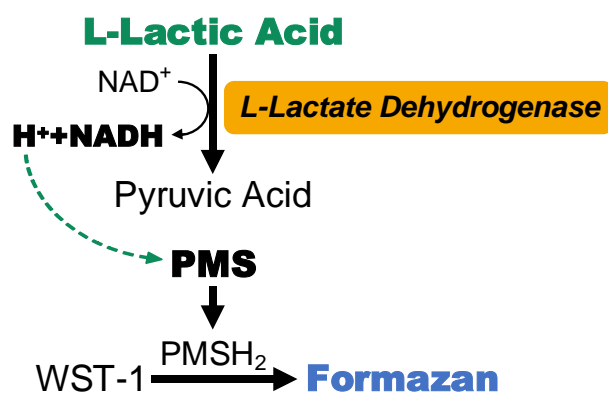




## L-乳酸 (L-LA) 含量检测试剂盒 (WST-1 法)

### L-Lactic Acid (L-LA) Content Assay Kit (WST-1 Method)



北京盒子生工科技有限公司  
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



## L-乳酸 (L-LA) 含量检测试剂盒 (WST-1 法)

### L-Lactic Acid (L-LA) Content Assay Kit (WST-1 Method)

#### 一、产品描述

乳酸是生物体代谢过程中重要的中间产物，在生理和生物学方面具有多种功能，既是糖酵解供能系统的终产物，又是有氧代谢供能系统的氧化基质，在机体能量代谢、氧化还原信号传导和脂质代谢等过程中具有重要作用。乳酸含量可作为评估有氧代谢和糖原代谢的重要指标，并且在医药、农业、工业和食品科学等领域具有广泛的应用和研究价值。

L-乳酸脱氢酶 (L-LDH) 能够催化 L-乳酸生成丙酮酸，同时使  $\text{NAD}^+$  还原生成  $\text{NADH}$  和  $\text{H}^+$ ，进一步通过 1-mPMS 的递氢作用，还原 WST-1 生成水溶性甲臃，产物在 450 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测 L-乳酸的含量。

#### 二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液 A	液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	-
提取液 B	液体 10 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 6 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 40 $\mu\text{L}$ ×1 支	4°C 避光保存	使用前按试剂二：蒸馏水=1:45 的体积比配制 (根据使用量现用现配，充分混匀后使用)
试剂三	粉剂×2 瓶	-20°C 避光保存	使用前每瓶加入 3 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C 可保存 2 周，避免反复冻融)
试剂四	液体 5 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
标准品	粉剂×1 支	4°C 保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (即为 100 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ L-乳酸标准液)
<b>标准稀释液的制备 (现用现配):</b> 使用前将 100 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ L-乳酸标准液使用蒸馏水稀释至 1.2、0.8、0.4、0.2、0.1、0.05 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 即为标准稀释液。			

### 三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、96孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

#### 1. 样本处理（可根据预实验结果适当调整样品量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液 A 体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液 A）处理样品，冰浴匀浆，4°C 12000 g 离心 10 min，吸取 800 μL 上清液至离心管中，加入 150 μL 提取液 B 充分混匀至无气泡产生，4°C 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量（10<sup>4</sup>个）：提取液 A 体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液 A）处理样品，冰浴超声破碎细菌或细胞（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4°C 12000 g 离心 10 min，吸取 800 μL 上清液至离心管中，加入 150 μL 提取液 B 充分混匀至无气泡产生，4°C 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：吸取 100 μL 液体样本加入 1 mL 提取液 A，4°C 12000 g 离心 10 min，吸取 800 μL 上清液至离心管中，加入 150 μL 提取液 B 充分混匀至无气泡产生，4°C 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

注：提取液 B 加入后会产生大量气泡，应缓慢加入并吹打混匀至无气泡产生，建议使用 2 mL 离心管。

#### 2. 测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 450 nm。

②标准稀释液的制备（现用现配）：使用前将 100 μmol/mL L-乳酸标准液使用蒸馏水稀释至 1.2、0.8、0.4、0.2、0.1、0.05 μmol/mL 即为标准稀释液。

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度（μmol/mL）	100	10	10	0.8	0.4	0.2	0.1
标准液体积（μL）	100	120	80	200	200	200	200
蒸馏水体积（μL）	900	880	920	200	200	200	200
稀释后浓度（μmol/mL）	10	1.2	0.8	0.4	0.2	0.1	0.05

③在 96 孔板中依次加入下列试剂（避光条件下进行）：

试剂	测定组 ( $\mu\text{L}$ )	对照组 ( $\mu\text{L}$ )	标准组 ( $\mu\text{L}$ )	空白组 ( $\mu\text{L}$ )
待测样本	10	10	-	-
标准稀释液	-	-	10	-
蒸馏水	-	10	-	10
试剂一	40	40	40	40
试剂二	10	-	10	10
试剂三	20	20	20	20
试剂四	30	30	30	30
充分混匀，37°C避光准确反应 30 min				
蒸馏水	90	90	90	90

**吸光值测定：**测定 450 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算  $\Delta A$  测定=A 测定-A 对照， $\Delta A$  标准=A 标准-A 空白。注：每个样品均需设一个对照组，各浓度标准组和空白组只需测定 1-2 次。

**标准曲线的建立：**以 1.2、0.8、0.4、0.2、0.1、0.05  $\mu\text{mol/mL}$  为横坐标 (x)，以其对应的  $\Delta A$  标准为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程  $y=kx+b$ ，将  $\Delta A$  测定带入公式中得到 x ( $\mu\text{mol/mL}$ )。

### 3. L-乳酸 (L-LA) 含量计算

①按组织蛋白含量计算

$$\text{L-乳酸含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = \frac{x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提 B}}) \times V_{\text{提 A}}}{C_{\text{pr}} \times W \times V_{\text{上清}}} = \frac{1.1875 \times x}{C_{\text{pr}} \times W}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{L-乳酸含量 } (\mu\text{mol/g}) = \frac{x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提 B}}) \times V_{\text{提 A}}}{W \times V_{\text{上清}}} = \frac{1.1875 \times x}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{L-乳酸含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = \frac{x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提 B}}) \times V_{\text{提 A}}}{\text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{上清}}} = \frac{1.1875 \times x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

#### ④按液体样本体积计算

$$\text{L-乳酸含量} (\mu\text{mol/mL}) = \frac{x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提B}}) \times (V_{\text{液}} + V_{\text{提A}})}{V_{\text{液}} \times V_{\text{上清}}} = 13.0625 \times x$$

**注释：** V 提 A：提取过程中加入提取液 A 的体积，1 mL；V 上清：提取过程中吸取上清液的体积，0.8 mL；V 提 B：提取过程中加入提取液 B 的体积，0.15 mL；V 液：提取过程中加入液体样本的体积，0.1 mL；Cpr：样本蛋白含量，mg/g；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计。

#### 四、注意事项

①若 A 测定或  $\Delta A$  测定超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将待测样本使用蒸馏水适当稀释后再进行测定；低于最低值建议制备更高浓度样本后再进行测定，计算时相应修改；

②试剂三配制后有效期较短，为便于试验安排，附赠一瓶试剂三作为备用，每瓶均可完成至少 50 个样本的检测用量；

③提取液中含有蛋白沉淀组分，待测样本不能用于蛋白浓度的测定，若需要使用蛋白浓度计算结果，建议使用 PBS 或生理盐水制备样本后再进行蛋白浓度测定；

④反应时间对实验结果有较大影响建议精确控制，测定样本较多时建议分批进行测定，以避免组内反应时间不一致对结果造成影响；

⑤反应体系中试剂不能按比例配制为混合液使用，必须按反应体系顺序依次加入；

⑥为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

**For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.**

**Notes:**

---

**boxbio**

**Manufactured and Distributed by**

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.  
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: [techsupport@boxbio.cn](mailto:techsupport@boxbio.cn)

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

