



丙酮酸(PA)含量检测试剂盒

中文名称：**丙酮酸(PA)含量检测试剂盒**

英文名称：Pyruvate(PA) Content Assay Kit

产品包装：盒装

产品规格：50T/48S

储存条件：2-8°C

检测方法：可见分光光度法

有效期：6个月

产品组成：

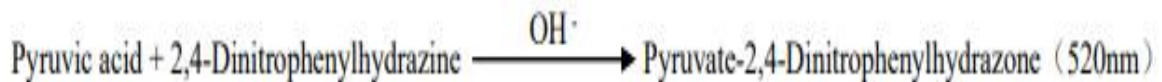
试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂一	液体 7 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂二	液体 30 mL×1 瓶	2-8°C保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8°C保存

溶液的配制：

- 1、标准品：20 μ mol/mL 丙酮酸钠标准溶液。
- 2、0.125 μ mol/mL 标准溶液的配制：取 50 μ L 20 μ mol/mL 标准液和 450 μ L 蒸馏水混匀，即 2 μ mol/mL 标准液；再取 50 μ L 2 μ mol/mL 标准液和 750 μ L 蒸馏水混匀即配成 0.125 μ mol/mL 标准溶液。

产品说明：

丙酮酸通过乙酰 CoA 连接葡萄糖、脂肪酸和氨基酸三大代谢，起着重要的枢纽作用。丙酮酸与 2,4-二硝基苯肼作用，生成丙酮酸-2,4-二硝基苯腙，在碱性溶液中呈樱红色。

**技术指标:**

最低检出限: 0.001 μ mol/mL

线性范围: 0.0015-0.25 μ mol/mL

注意: 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。

操作步骤:**一、样本处理(可适当调整待测样本量)**

1、细菌或培养细胞: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照细菌或细胞数量(10⁴ 个): 提取液体积 (mL)为 500~1000: 1 的比例(建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液), 超声波破碎(冰浴, 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次), 静置 30min , 8000g, 常温离心 10min, 取上清待测。

2、组织: 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, 静置 30min , 8000g, 常温离心 10min, 取上清待测。

3、血清(浆)样本等液体: 按照血清(浆)体积(mL): 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例(建议取 0.1mL 液体样本加入 1mL 提取液), 进行冰浴匀浆, 静置 30min , 8000g, 常温离心 10min, 取上清待测。



二、测定步骤

1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 520nm，蒸馏水调零。

2、操作表：(在 1.5mL EP 管中加入下列试剂)

试剂名称(μL)	测定管	标准管	空白管
样本	300	-	-
标准溶液	-	300	-
蒸馏水	-	-	300
试剂一	100	100	100
充分混匀后常温静置 2min			
试剂二	500	500	500
充分混匀后于 520nm 波长处测定吸光值，记为 A 测定管、A 标准管、A 空白管，计算 ΔA 测定=A 测定管-A 空白管， ΔA 标准=A 标准管-A 空白管。空白管和标准管只需做 1-2 次。			

三、丙酮酸含量计算

1、按照血清(浆)体积计算

丙酮酸含量(μmol/mL)= ΔA 测定 ÷ ΔA 标准 × C 标准 × (V 提取 + V 液体) ÷ V 液体 = 0.1375 ×

ΔA 测定 ÷ ΔA 标准

2、按照样本蛋白浓度计算

丙酮酸含量(μmol /mg prot)= ΔA 测定 ÷ ΔA 标准 × C 标准 × V 样本 ÷ (V 样本 × Cpr) = 0.125 ×

× ΔA 测定 ÷ ΔA 标准 ÷ Cpr

3、按照样本质量计算

丙酮酸含量(μmol /g 质量)= ΔA 测定 ÷ ΔA 标准 × C 标准 × V 提取 ÷ W = 0.125 × ΔA 测定 ÷ ΔA

A 标准 ÷ W

4、按照细菌或细胞数量计算

丙酮酸含量(μmol /10⁴ cell)= ΔA 测定 ÷ ΔA 标准 × C 标准 × V 提取 ÷ N = 0.125 × ΔA 测定 ÷ ΔA



A 标准 ÷ N

C 标准: 0.125 μ mol/mL 标准溶液; V 样本: 加入反应体系中样本体积, 0.3mL; V 提取:

加入提取液体积, 1mL; V 液体: 加入血清(浆)等液体体积, 0.1mL; Cpr: 样本蛋白质浓

度, mg/mL; W: 样本质量, g; N: 细菌或细胞总数, 以万计。

三、丙酮酸含量计算

1、按照血清(浆)体积计算

丙酮酸含量(μ mol/mL) = ΔA 测定 ÷ ΔA 标准 × C 标准 × (V 提取 + V 液体) ÷ V 液体 = 0.1375 ×

ΔA 测定 ÷ ΔA 标准

2、按照样本蛋白浓度计算

丙酮酸含量(μ mol /mg prot) = ΔA 测定 ÷ ΔA 标准 × C 标准 × V 样本 ÷ (V 样本 × Cpr) = 0.125

× ΔA 测定 ÷ ΔA 标准 ÷ Cpr

3、按照样本质量计算

丙酮酸含量(μ mol /g 质量) = ΔA 测定 ÷ ΔA 标准 × C 标准 × V 提取 ÷ W = 0.125 × ΔA 测定 ÷ Δ

A 标准 ÷ W 4、按照细菌或细胞数量计算

丙酮酸含量(μ mol /10⁴ cell) = ΔA 测定 ÷ ΔA 标准 × C 标准 × V 提取 ÷ N = 0.125 × ΔA 测定 ÷ Δ

A 标准 ÷ N

C 标准: 0.125 μ mol/mL 标准溶液; V 样本: 加入反应体系中样本体积, 0.3mL; V 提取:

加入提取液体积, 1mL; V 液体: 加入血清(浆)等液体体积, 0.1mL; Cpr: 样本蛋白质浓

度, mg/mL; W: 样本质量, g; N: 细菌或细胞总数, 以万计。

注意事项:

1. 如果测定吸光值超过线性范围吸光值, 可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。

2. 提取液中含有蛋白变性成分, 若使用蛋白浓度计算需要另取样本提取测定。



实验实例:

1. 称取约 0.1171g 兔肝, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆, 静置 30min , 8000g, 常温离心 10min, 取上清待测。之后按照测定步骤操作, 用 1mL 玻璃比色皿测得计算 ΔA 测定 = A 测定管 - A 空白管 = 0.570 - 0.101 = 0.469 , ΔA 标准 = A 标准管 - A 空白管 = 0.541 - 0.101 = 0.440, 计算丙酮酸含量得:

$$PA(\mu\text{mol/g 质量}) = 0.125 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div W = 1.138 \mu\text{mol/g 质量}$$

2. 称取约 0.1094g 合欢, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆, 静置 30min , 8000g, 常温离心 10min, 取上清用蒸馏水稀释 2 倍后待测。之后按照测定步骤操作, 用 1mL 玻璃比色皿测得计算 ΔA 测定 = A 测定管 - A 空白管 = 0.886 - 0.101 = 0.785 , ΔA 标准 = A 标准管 - A 空白管 = 0.541 - 0.101 = 0.440, 计算丙酮酸含量得:

$$PA(\mu\text{mol/g 质量}) = 0.125 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div W \times \text{稀释倍数} = 4.077 \mu\text{mol/g 质量}$$

3. 取 50 μ L 兔血清之后按照测定步骤操作, 用 1mL 玻璃比色皿测得计算 ΔA = A 测定管 - A 空白管 = 0.146 - 0.101 = 0.045, ΔA 标准 = A 标准管 - A 空白管 = 0.541 - 0.101 = 0.440, 计算丙酮酸含量得:

$$PA(\mu\text{mol/mL}) = 0.1375 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} = 0.014 \mu\text{mol/mL}$$