（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

产品货号：E-BC-K130-S

产品规格：50 assays(48 samples)/100 assays(96 samples)

检测仪器：紫外-可见光分光光度计（505 nm）

Elabscience®丙酮酸比色法测试盒

Pyruvic Acid Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

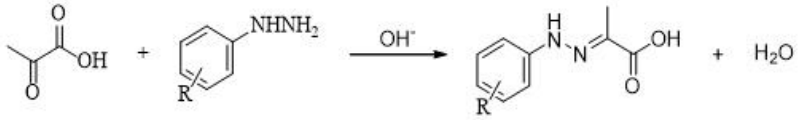
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清(浆)、动植物组织中的丙酮酸含量。

检测原理

丙酮酸与显色剂反应，反应产物在碱性溶液中呈红棕色，颜色的深浅与丙酮酸含量成正比，通过比色可以计算出丙酮酸的含量。



本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法(货号：E-BC-K318-M)。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1) (50 assays)	规格 2 (Size 2) (100 assays)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	澄清剂 (Clarificant)	12 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	显色剂 (Chromogenic Agent)	30 mL×1 瓶	60 mL×1 瓶	2-8°C 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	碱溶液 (Alkali Reagent)	50 mL×3 瓶	50 mL×6 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	2 μmol/mL 丙酮酸钠标准品 (2 μmol/mL Sodium Pyruvate Standard)	1.6 mL×1 支	1.6 mL×2 支	2-8°C 保存 6 个月

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：紫外-可见光分光光度计（505 nm）

试剂：双蒸水、生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS(0.01 M，pH 7.4)

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 0.2 μmol/mL丙酮酸钠标准品应用液的配制：

按试剂四：双蒸水为1: 9的体积比混匀，现用现配，2-8℃可保存7天。

样本准备

① 样本处理

血清血浆样本：可直接测定。

组织样本：取 0.020-1.0 g 新鲜组织块，按照重量（g）：体积（mL）=1: 9的比例加入生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS(0.01 M，pH 7.4)，进行匀浆，4℃，10000 × g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.006-2.0 μmol/mL，可参考下表进行稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	10%小鼠肝脏组织	不稀释
小鼠血清	不稀释	10%大鼠肾脏组织	不稀释
小鼠血浆	不稀释	10%大鼠心组织	不稀释

注：稀释液为 PBS(0.01 M，pH 7.4)或生理盐水(0.9% NaCl)。

操作步骤

血清血浆样本

① 空白管：取 0.1 mL 双蒸水，加入 5 mL EP 管中；
标准管：取 0.1 mL 0.2 μmol/mL 丙酮酸钠标准品，加入 5 mL EP 管中；
测定管：取 0.1 mL 血清（浆），加入 5 mL EP 管中。

② 向步骤①中的各管加入 0.5 mL 试剂二，涡旋混匀。

③ 37℃孵育 10 min。

④ 向步骤③中的各管加入 2.5 mL 试剂三，涡旋混匀。

⑤ 室温静置 5 min，波长 505 nm，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定 OD 值。

操作表

	空白管	标准管	测定管
双蒸水(mL)	0.1	--	--
0.2 μmol/mL 丙酮酸钠(mL)	--	0.1	--
血清（浆）(mL)	--	--	0.1
试剂二(mL)	0.5	0.5	0.5
混匀，37℃孵育 10 min			
试剂三(mL)	2.5	2.5	2.5
混匀，室温静置 5 min，波长 505 nm，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定 OD 值。			

组织样本

① 空白管：取 0.1 mL 双蒸水，加入 5 mL EP 管中；
标准管：取 0.1 mL 0.2 μmol/mL 丙酮酸钠标准品，加入 5 mL EP 管中；
测定管：取 0.1 mL 组织/细胞匀浆，加入 5 mL EP 管中。

② 向步骤①中的各管加入 0.1 mL 试剂一，涡旋混匀。

③ 向步骤②中的各管加入 0.5 mL 试剂二，涡旋混匀。

④ 37℃孵育 10 min。

⑤ 向步骤④中的各管加入 2.5 mL 试剂三，涡旋混匀。

⑥ 室温静置 5 min，波长 505 nm，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定 OD 值。

操作表

	空白管	标准管	测定管
双蒸水(mL)	0.1	--	--
0.2 μmol/mL 丙酮酸钠(mL)	--	0.1	--
组织匀浆(mL)	--	--	0.1
试剂一(mL)	0.1	0.1	0.1
试剂二(mL)	0.5	0.5	0.5
混匀，37℃孵育 10 min			
试剂三(mL)	2.5	2.5	2.5
混匀，室温静置 5 min，波长 505 nm，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定 OD 值。			

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法(货号：E-BC-K318-M)。

结果计算

血清(浆)等液体样本中丙酮酸计算：

$$\text{丙酮酸含量}(\mu mol/mL) = \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times c \times f$$

组织中丙酮酸计算：

$$\text{丙酮酸含量}(\mu mol/mgprot) = \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times c \times f \div C_{pr}$$

注解：

ΔA_1：测定 OD 值-空白 OD 值

ΔA_2：标准 OD 值-空白 OD 值

c：标准品浓度（0.2 μmol/mL）

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

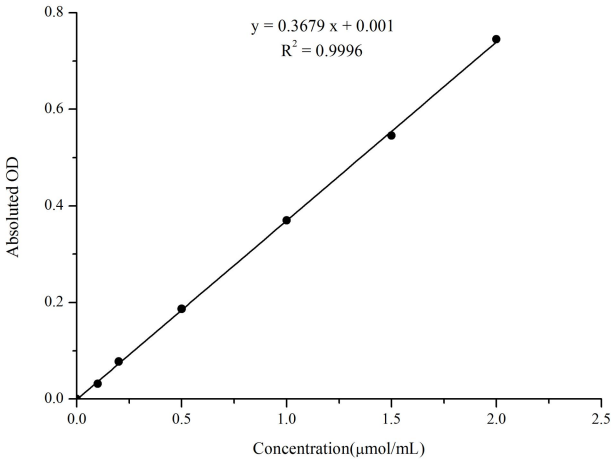
C_{pr}：待测样本的蛋白浓度(mg/mL)

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.006-2.0 μmol/mL	**平均批间差**	1.5 %
灵敏度	0.006 μmol/mL	**平均批内差**	1.3 %
平均回收率	100 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



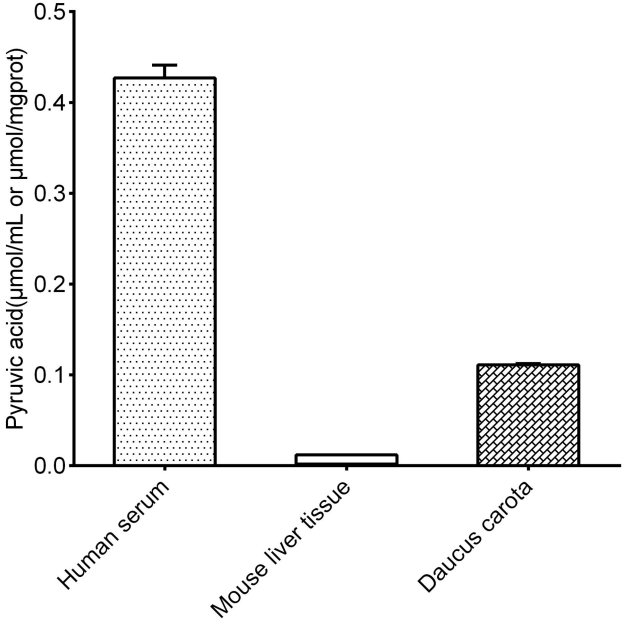
附录2 实例分析

例如检测人血清(数据仅供参考)：

取0.1 mL人血清，按操作表操作，结果如下：空白管平均OD值为0.014，标准管平均OD值为0.089，测定管平均OD值为0.174，计算结果为：

$$\text{丙酮酸含量（μmol/mL）}=\frac{0.174-0.014}{0.089-0.014}\times0.2\times1=0.43\ \mu\text{mol/mL}$$

按照操作过程，测定人血清（加样量0.1 mL）、小鼠肝脏组织（10%组织匀浆的蛋白含量16.99 mg/mL，加样量0.1 mL）、胡萝卜（10%组织匀浆的蛋白含量1.16 mg/mL，加样量0.1 mL）中丙酮酸的含量（如下图）：



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
测值不稳定，复孔差异大	微量移液器使用不熟练	小心加样,避免液体溅到其它测样管中
	未严格按照说明书操作	严格按照说明书操作
样本和标准品显色很低	孵育时间太短	保证充足的孵育时间
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数,重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本，重新检测
样本测量结果>2.0 μmol/mL	样本浓度太高	适当稀释样本，重新检测
读数数值低	用不恰当波长检测	选择正确的检测波长

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Tseng S.Ja. An acid degradable, lactate oxidizing nanoparticle formulation for non-small cell lung cancer virotherapy[J]. Nano Today. IF:18.962
2. Salman T M, Iyanda M A, Alli-Oluwafuyi A M, et al. Telfairia occidentalis stimulates hepatic glycolysis and pyruvate production via insulin-dependent and insulin-independent mechanisms[J]. Metabolism Open, 2021, 10(1-10):100092. IF:8.694
3. Zhang Y, Wang Z, Shi B, et al. Effect of gingival mesenchymal stem cell-derived exosomes on inflammatory macrophages in a high-lipid microenvironment[J]. International Immunopharmacology, 2021, 94(9499):107455. IF:4.932
4. Alsayyah A, ElMazoudy R, Al-Namshan M, et al. Chronic neurodegeneration by aflatoxin B1 depends on alterations of brain enzyme activity and immunoexpression of astrocyte in male rats[J]. Ecotoxicology and environmental safety, 2019, 182: 109407. IF:4.527
5. Faheem M. Synthesis and Biological Evaluation of Benzimidazole Derivatives as Potential Neuroprotective Agents in an Ethanol-Induced Rodent Model[J]. ACS Chemical Neuroscience, 2021, 12(3):489−505. IF:4.418
6. Ren F , Xu X , Xu J B , et al. Compound essential oils relieve oxidative stress caused by PM 2. 5 exposure by inhibiting autophagy through the AMPK / mTOR pathway[J]. Environmental Toxicology, 2021 Sep; 36(9):1765-1774. IF:4.119
7. Mohsin Alvi A, Tariq Al Kury L, Umar Ijaz M, et al. Post-Treatment of Synthetic Polyphenolic 1, 3, 4 Oxadiazole Compound A3, Attenuated Ischemic Stroke-Induced Neuroinflammation and Neurodegeneration[J]. Biomolecules, 2020, 10(6): 816. IF:4.082
8. Darband S G, Sadighparvar S, Yousefi B, et al. Quercetin attenuated oxidative DNA damage through NRF2 signaling pathway in rats with DMH induced colon carcinogenesis[J]. Life sciences, 2020(253-). IF:3.708
9. Shah F A, Ali T, Khan A U. Potent Natural Antioxidant Carveol Attenuates MCAO-induced Oxidative stress, Neurodegeneration by Regulating the Nrf-2 pathway[J]. Frontiers in Neuroscience, 2020, 14: 659. IF:3.707
10. Amany Abdel-Rahman Mohamed , Safaa I. Khater , Ahmed Hamed Arisha , et al. Chitosan-stabilized selenium nanoparticles alleviate cardio-hepatic damage in type 2 diabetes mellitus model via regulation of caspase, Bax/Bcl-2, and Fas/FasL-pathway[J]. Gene, 2020, 768(7):145288. IF:3.688