

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：GBQ114

产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器：酶标仪(480-520 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。

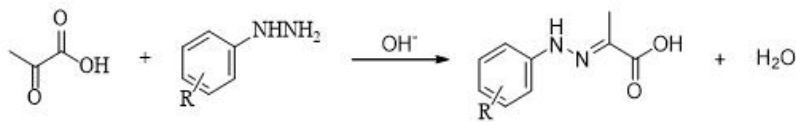
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

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：GBQ162)。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48T)	规格 2 (Size 2)(96T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	澄清剂 (Clarificant)	0.6 mL×1 支	1.2 mL×1 支	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	显色剂 (Chromogenic Agent)	3 mL×1 瓶	6 mL×1 瓶	2-8℃ 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	碱试剂 (Alkali Reagent)	10 mL×1 瓶	20 mL×1 瓶	2-8℃ 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×1 支	2-8℃ 保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

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：酶标仪(480-520 nm，最佳检测波长 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 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(μmol/mL)	0	0.1	0.2	0.6	0.8	1.2	1.6	2.0
2 μmol/mL 标准品(μL)	0	5	10	30	40	60	80	100
双蒸水(μL)	100	95	90	70	60	40	20	0

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：0.003-2.0 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 标准孔：取 15 μ L 不同浓度的标准品加入到酶标板孔中；
测定孔：取 15 μ L 待测样本加入到酶标板孔中；
- ② 向①步骤中标准孔、测定孔加入 50 μ L 试剂二。
- ③ 酶标仪振板 10 s，37℃ 孵育 10 min。
- ④ 向③步骤中标准孔、测定孔加入 150 μ L 试剂三。
- ⑤ 酶标仪振板 10 s，室温静置 5 min，酶标仪 505 nm 测 OD 值。

操作表

	标准孔	测定孔
不同浓度的标准品(μ L)	15	--
待测样本(μ L)	--	15
试剂二(μ L)	50	50
酶标仪振板 10 s，37℃ 孵育 10 min		
试剂三(μ L)	150	150
酶标仪振板 10 s，室温静置 5 min，酶标仪 505 nm 测 OD 值。		

组织样本

- ① 标准孔：取 15 μ L 不同浓度的标准品加入到酶标板孔中；
测定孔：取 15 μ L 待测样本加入到酶标板孔中；
- ② 向①步骤中标准孔、测定孔依次加入 10 μ L 试剂一，50 μ L 试剂二。
- ③ 酶标仪振板 10 s，37°C 孵育 10 min。
- ④ 向③步骤中标准孔、测定孔加入 150 μ L 试剂三。
- ⑤ 酶标仪振板 10 s，室温静置 5 min，酶标仪 505 nm 测 OD 值。

操作表

	标准孔	测定孔
不同浓度的标准品(μ L)	15	--
待测样本(μ L)	--	15
试剂一(μ L)	10	10
试剂二(μ L)	50	50
酶标仪振板 10 s，37°C 孵育 10 min		
试剂三(μ L)	150	150
酶标仪振板 10 s，室温静置 5 min，酶标仪 505 nm 测 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：GBQ162)。

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

血清(浆)等液体样本中丙酮酸计算:

$$\begin{array}{l} \text{丙酮酸含量} \\ (\mu\text{mol/mL}) \end{array} = (\Delta A_{505} - b) \div a \times f$$

组织中丙酮酸计算:

$$\begin{array}{l} \text{丙酮酸含量} \\ (\mu\text{mol/mgprot}) \end{array} = (\Delta A_{505} - b) \div a \times f \div C_{\text{pr}}$$

注解:

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 吸光度对应的浓度

a: 标曲斜率

b: 标曲截距

ΔA_{505} : 测定孔 OD 值-空白 OD 值, 空白 OD 值为标准品浓度为 0 时的 OD 值

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

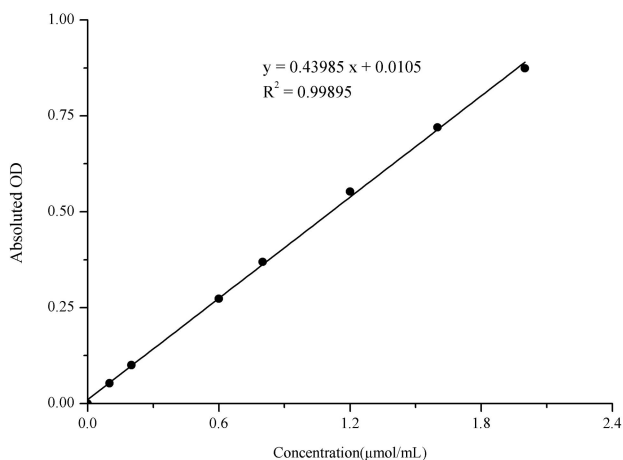
检测范围	0.003-2.0 $\mu\text{mol/mL}$	平均批间差	3.6 %
灵敏度	0.003 $\mu\text{mol/mL}$	平均批内差	2.3 %
平均回收率	95 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 标准品浓度测定数据：

标准品浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)	0.0	0.1	0.2	0.6	0.8	1.2	1.6	2.0
OD 值	0.047	0.105	0.145	0.326	0.419	0.601	0.768	0.896
	0.049	0.097	0.152	0.317	0.415	0.600	0.769	0.949
平均 OD 值	0.048	0.101	0.148	0.321	0.417	0.601	0.768	0.922
绝对 OD 值	0.000	0.053	0.100	0.273	0.369	0.553	0.720	0.874

② 制标准曲线，如下图所示：



附录2 实例分析

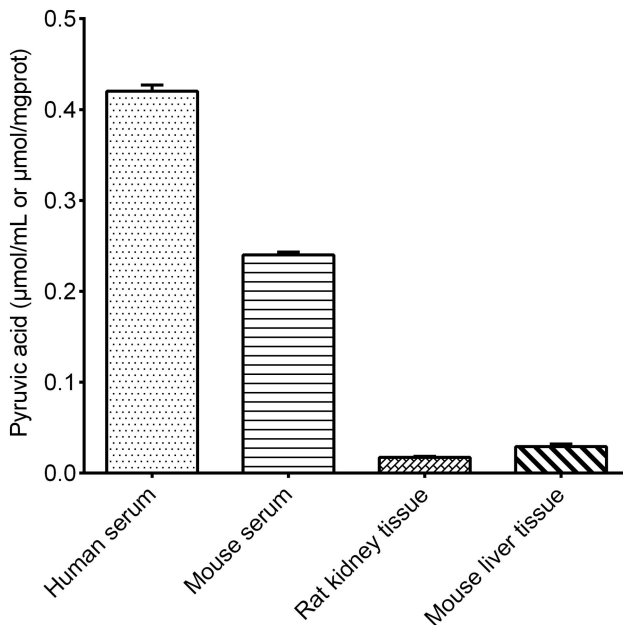
例如检测人血清(数据仅供参考):

取15 μL 人血清样本, 按照说明书操作, 结果如下:

标准曲线: $y = 0.4983x + 0.0123$, 测定孔平均OD值为0.269, 空白孔平均OD值为0.047, 计算结果为:

$$\text{丙酮酸含量} = (0.269 - 0.047 - 0.0123) \div 0.4983 = 0.42 \mu\text{mol/mL} \\ (\mu\text{mol/mL})$$

按照说明书操作, 测定人血清(加样量15 μL)、小鼠血清(加样量15 μL)、10%大鼠肾脏组织(10%组织的蛋白含量10.36 mgprot/mL, 加样量15 μL)和10%小鼠肝脏组织(10%组织的蛋白含量12.72 mgprot/mL, 加样量15 μL)中含量(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
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
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

