

(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-K002-M

产品规格: 48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器: 酶标仪 (520-550 nm)

Elabscience® D-乳酸 (LA) 比色法测试盒

D-Lactic Acid/Lactate (LA) 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动物组织样本及血清（浆）、唾液等液体样本内 D-乳酸的含量。

检测原理

以氧化型辅酶I (NAD⁺) 为氢受体, D-乳酸脱氢酶 (LDH) 催化 D-乳酸脱氢产生丙酮酸, 使 NAD⁺转化为还原型辅酶I (NADH)。其中 N-甲基吩嗪甲基硫酸盐 (PMS) 递氢使氯化硝基四氮唑蓝 (NBT) 还原为紫色呈色物, 呈色物的吸光度在 530 nm 时与乳酸含量呈线性关系。整个过程中, L-乳酸不影响测定结果, 因此, 通过测定波长 530 nm 处吸光度值的变化, 即可计算出样本中 D-乳酸的含量。

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

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)	缓冲液 (Buffer Solution)	6 mL × 1 瓶	12 mL × 1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	酶储备液 (Enzyme Stock Solution)	0.06 mL × 1 支	0.12 mL × 1 支	2-8℃ 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 (Chromogenic Agent)	1.2 mL × 1 支	1.2 mL × 2 支	2-8℃ 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	终止液 (Stop Solution)	12 mL × 1 瓶	24 mL × 1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	10 mmol/L 标准品 (10 mmol/L Standard Solution)	1.0 mL × 1 支	2.0 mL × 1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
	96 孔酶标板	1 板		
	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 (520-550 nm, 最佳检测波长 530 nm)

试剂准备

① 检测前, 试剂一、三、四、五需平衡至室温, 试剂二需置于冰上备用。

② 酶工作液的配制:

按试剂一: 试剂二 = 100: 1的体积比混匀, 现用现配。

③ 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(mmol/L)	0	1	2	4	5	6	7	8
10 mmol/L 标准品 (μ L)	0	20	40	80	100	120	140	160
双蒸水(μ L)	200	180	160	120	100	80	60	40

样本准备

① 样本处理

血清（浆）、唾液等液体样本：可直接测定。

组织样本：匀浆液为生理盐水(0.9% NaCl)或 PBS(0.01M, pH 7.4)，匀浆上清留取一部分用于蛋白浓度测定。

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：0.06-8.0 mmol/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	小鼠血清	不稀释
人血浆	不稀释	兔血清	不稀释
大鼠血清	不稀释	10%大鼠肾组织	2-3
大鼠血浆	不稀释	10%大鼠脑组织	不稀释
小鼠血浆	不稀释	HepG2 细胞匀浆	1-2 倍

注：0.9% NaCl 或 PBS (0.01 M, pH 7.4)。

实验关键点

- ① 试剂一取用时应倒出部分，再取用，避免试剂污染。
- ② 样本和标准品加入板孔中时应触底加入。

操作步骤

- ① 标准孔：取 5 μL 不同浓度标准品，加入到对应的标准孔中。
测定孔：取 5 μL 待测样本，加入到对应的样本孔中。
- ② 向步骤①各孔中加入 100 μL 酶工作液。
- ③ 向步骤②各孔中加入 20 μL 试剂三，37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min。
- ④ 向步骤③各孔中加入 180 μL 试剂四。
- ⑤ 酶标仪上振板 5 s，于波长 530 nm 处测定各孔 OD 值。

操作表

	测定孔	标准孔
不同浓度的标准品(μL)	--	5
待测样本(μL)	5	--
酶工作液(μL)	100	100
试剂三(μL)	20	20
37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min		
试剂四(μL)	180	180
酶标仪上振板 5 s，于波长 530 nm 处测定各孔 OD 值。		

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

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

血清、血浆等液体样本中 D-乳酸浓度计算公式:

$$\text{D-乳酸浓度 (mmol/L)} = (\Delta A_{530} - b) \div a \times f$$

组织样本中 D-乳酸浓度计算公式:

$$\text{D-乳酸浓度 (mmol/gprot)} = (\Delta A_{530} - b) \div a \div C_{pr} \times f$$

注解:

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值 (标准品浓度为 0 的 OD 值)

x: 吸光度对应的浓度

a: 标准曲线斜率

b: 标准曲线截距

ΔA_{530} : 样本测定 OD 值-空白 OD 值

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

C_{pr} : 组织样本的蛋白浓度(gprot/L)

附录1 关键数据

1. 技术参数

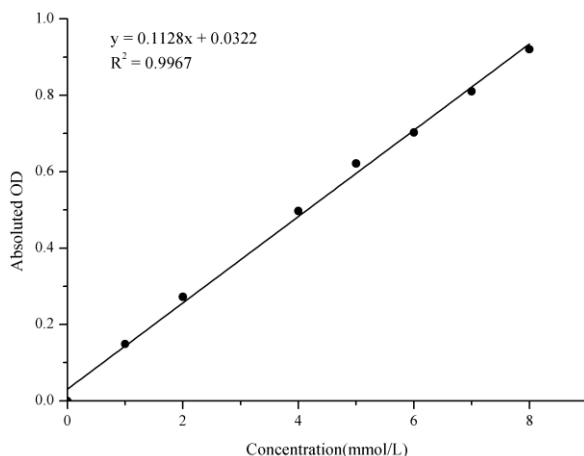
检测范围	0.06-8.0 mmol/L	平均批间差	7.7 %
灵敏度	0.06 mmol/L	平均批内差	3.8 %
平均回收率	99 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度的标准品加样量5 μL ，按照操作步骤进行实验，读取各点OD值如下表所示：

标准品浓度 (mmol/L)	0	1.0	2.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0
OD 值	0.138	0.284	0.414	0.648	0.752	0.856	0.934	1.083
	0.136	0.288	0.405	0.620	0.765	0.823	0.961	1.032
平均 OD 值	0.137	0.286	0.410	0.634	0.759	0.840	0.948	1.058
绝对 OD 值	0.000	0.149	0.273	0.497	0.622	0.703	0.811	0.921

②绘制标曲(如下图)：



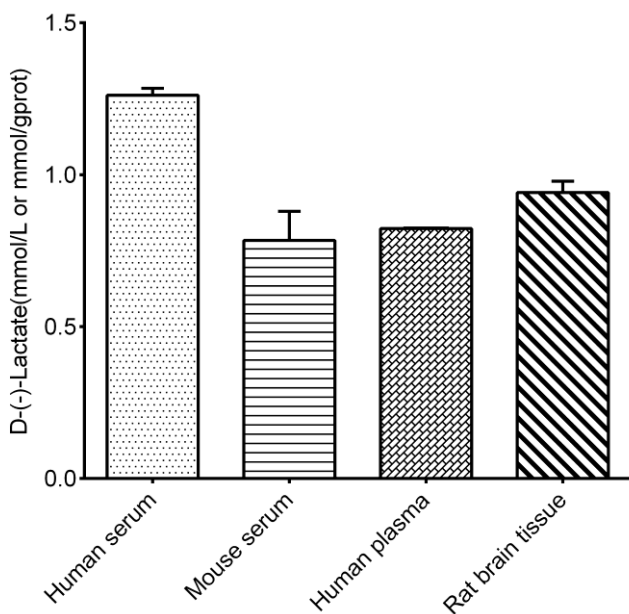
附录2 实例分析

例如检测人血清(数据仅供参考):

取5 μL 的人血清,按操作表检测,结果如下: D-乳酸的标准曲线: $y = 0.1082x + 0.0232$,测定孔平均OD值为0.307,空白OD值为0.148,计算结果为:

$$\text{D-乳酸浓度} = (0.307 - 0.148 - 0.0232) \div 0.1082 = 1.26 \text{ mmol/L} \\ (\text{mmol/L})$$

按照说明书,测定人血清(加样量5 μL)、小鼠血清(加样量5 μL)、人血浆(加样量5 μL)和10%大鼠脑组织匀浆(加样量5 μL ,蛋白浓度为3.64 gprot/L)中的D-乳酸浓度(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	加样时间过长	尽可能的缩短加样时间
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>8.0 mmol/L	样本浓度太高	选择合适稀释倍数，重新检测

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. Mu X, Xiang Z, Xu Y, et al. Glucose metabolism controls human $\gamma\delta$ T-cell-mediated tumor immunosurveillance in diabetes[J]. Cellular & Molecular Immunology. IF:22.096
2. Tseng S.Ja. An acid degradable, lactate oxidizing nanoparticle formulation for non-small cell lung cancer virotherapy[J]. Nano Today. IF:18.962
3. Zhang H, Zheng Q, Guo T, et al. Metabolic reprogramming in astrocytes results in neuronal dysfunction in intellectual disability. Mol Psychiatry. 2022. IF:15.992
4. 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
5. Li Q, Peng J, Luo Y, et al. Far infrared light irradiation enhances A β clearance via increased exocytotic microglial ATP and ameliorates cognitive deficit in Alzheimer's disease-like mice. J Neuroinflammation. 2022; 19 (1):145. IF:7.573
6. Zeng X Peng, Wang L J, Guo L H, et al. Dasatinib ameliorates chronic pancreatitis induced by caerulein via anti- fibrotic and anti-inflammatory mechanism[J]. Pharmacological Research, 2019, 147, 104357. IF:5.574
7. Daily Dose of Bovine Lactoferrin Prevents Ethanol-Induced Liver Injury and Death in Male Mice by Regulating Hepatic Alcohol Metabolism and Modulating Gut Microbiota[J]. Molecular Nutrition & Food Research. IF:5.426
8. Wang Y, Xie W, Feng Y, et al. Epithelial-derived exosomes promote M2 macrophage polarization via Notch2/SOCS1 during mechanical ventilation. Int J Mol Med. 2022; 50 (1). IF:5.314
9. Yu C, Wang D, Tong Y, et al. Trans -Anethole Alleviates Subclinical Necro-Haemorrhagic Enteritis-Induced Intestinal Barrier Dysfunction and Intestinal Inflammation in Broilers. Front Microbiol. 2022; 13:831882. IF:5.259
10. Xu Y , Zhang Y , Xu Y , et al. Activation of CD137 signaling promotes macrophage apoptosis dependent on p38 MAPK pathway-mediated mitochondrial fission[J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2021 Jul; 136:106003. IF:5.085
11. Naseh A, Shirin B, Maryam M, et al. Attenuation of chronic arsenic neurotoxicity via melatonin in male offspring of maternal rats exposed to arsenic during conception: Involvement of oxidative DNA damage and inflammatory signaling cascades[J]. Life Sciences 266 (2021) 118876. IF:5.037

12. Zhong J, Sun P, Xu N, et al. Canagliflozin inhibits p-gp function and early autophagy and improves the sensitivity to the antitumor effect of doxorubicin[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2020, 175: 113856. IF:4.96
13. Wang L J, He L, Hao L, et al. Isoliquiritigenin ameliorates caerulein-induced chronic pancreatitis by inhibiting the activation of PSCs and pancreatic infiltration of macrophages[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2020. IF:4.486
14. Laurian R, Ravent J, Dementhon K, et al. *Candida albicans* Hexokinase 2 Challenges the *Saccharomyces cerevisiae* Moonlight Protein Model[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(4):848. IF:4.128
15. Liu J, Duan P, Xu C Y, et al. CircRNA circ-ITCH improves renal inflammation and fibrosis in streptozotocin-induced diabetic mice by regulating the miR-33a-5p/SIRT6 axis[J]. *Inflammation Research*, 2021. IF:4.114
16. Yu H, Zhang L, Chen P, et al. Dietary bile acids enhance growth, and alleviate hepatic fibrosis induced by a high starch diet via AKT/FOXO1 and cAMP/AMPK/SREBP1 pathway in *Micropterus salmoides*[J]. *Frontiers in Physiology*, 2019, 10. IF:3.367
17. Sohini Sen, Shaunak Ghosh, Sayantan De, et al. Immunomodulatory and antimicrobial non-mulberry *Antheraea mylitta* silk fibroin accelerates in vitro fibroblast repair and regeneration by protecting oxidative stress[J]. *RSC Advances*, 2021 May; 11(31):19265-19282. IF:3.361
18. Li Jianda, Yuan Chen, Liu Peng et al. Red blood cells serve as a vehicle for PEDV transmission.[J]. *Vet Microbiol*, 2021, 257: 109081. IF:3.293
19. Ali A, Elsherbiny D, Azab S, et al. The diuretic amiloride attenuates doxorubicin-induced chemobrain in rats: Behavioral and mechanistic study[J]. *Neurotoxicology*, 2021, 88:1-13. IF:3.088
20. Yang H, Gan S, Jiang Z, et al. Protective effects of essential oil from *Fructus Alpiniae zerumbet* on retinal Müller gliosis via the PPAR- γ -p-CREB signaling pathway[J]. *Chinese Medicine*, 2020, 15(1): 4. IF:2.96
21. Chen Wenqi, Li Yuehua, Zhong Jing et al. circ-PRKCI targets miR-1294 and miR-186-5p by downregulating FOXK1 expression to suppress glycolysis in hepatocellular carcinoma.[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23: undefined. IF:2.952
22. Cui Y, Wang Y, Liu G. Protective Effect of Barbaloin in a Rat Model of Myocardial Ischemia Reperfusion Injury Through the Regulation of the CNPY2 \uparrow PERK Pathway[J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2019. IF:2.928

23. Li H, Xia T, Guan Y, et al. Sevoflurane Regulates Glioma Progression by Circ_0002755/miR-628-5p/MAGT1 Axis[J]. *Cancer Management and Research*, 2020, 12: 5085. IF:2.886
24. Cheng F, Yu J, Zhang X, et al. CircSEC31A Promotes the Malignant Progression of Non-Small Cell Lung Cancer Through Regulating SEC31A Expression via Sponging miR-376a[J]. *Cancer Management and Research*, 2020, Volume 12:11527-11539. IF:2.886
25. Sanjeev S, Murthy M K, Devi M S, et al. Isolation, characterization, and therapeutic activity of bergenin from marlberry (*Ardisia colorata* Roxb.) leaf on diabetic testicular complications in Wistar albino rats[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019: 1-20. IF:2.8
26. Dede A, Arslanyolu M. The in vivo *Tetrahymena thermophila* extracellular glucose drop assay for characterization of mammalian insulin activity[J]. *European Journal of Protistology*, 2021, 79(1):125803. IF:2.432
27. Wang F, Chen H, Chen Y, et al. Diet-induced obesity is associated with altered expression of sperm motility-related genes and testicular post-translational modifications in a mouse model[J]. *Theriogenology*, 2020. IF:2.094
28. Bhargava P, Verma V K, Malik S, et al. Hesperidin Regresses Cardiac Hypertrophy by Virtue of PPAR- γ Agonistic, Anti-Inflammatory, Antiapoptotic, and Antioxidant Properties[J]. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 2019: e22283. IF:1.837
29. Adeyemi W J, Abdussalam T A, Abdulrahim A, et al. Elevated, sustained, and yet reversible biotoxicity effects of lead on cessation of exposure: Melatonin is a potent therapeutic option[J]. *Toxicology and Industrial Health*, 2020, 36(7): 477-486. IF:1.708
30. Ustunova S, Takir S, Yilmazer N, et al. Hydrogen sulphide and nitric oxide cooperate in cardioprotection against ischemia/reperfusion injury in isolated rat heart[J]. *in vivo*, 2020, 34(5): 2507-2516. IF:1.541