丙酮酸(PA）含量检测试剂盒（微量法）
（本试剂盒仅供科研使用）

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0385	丙酮酸（PA）含量检测试剂盒	100 管/96 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 100mL ×1 瓶	4℃
试剂一	液体 5mL ×1 瓶	4℃
试剂二	液体 25mL ×1 瓶	4℃
丙酮酸钠标准液	液体 1mL ×1 瓶，1mg/mL。	4℃

一、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。

二、自备材料

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵、冰、蒸馏水。

三、样本准备

1、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。

2、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（10^4 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，功率 20%或 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。

3、血清（浆）样品：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 血清（浆）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。

四、操作步骤

正式测定前，必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

1、分光光度计预热 30min 以上，调解波长至 520nm，蒸馏水调零。

2、标准品的准备：将标准品用蒸馏水稀释至 100、50、25、12.5、6.25、3.125、1.5625、0μg/mL。

3、在微量玻璃比色皿或 96 孔板中加入 75μL 标准液或样本和 25μL 试剂一，混匀，静置 2min，加入 125μL 试剂二，混匀，于 520nm 波长处测定吸光值 A。

五、含量的计算

根据标准品浓度和测定值建立标准曲线；y 为丙酮酸钠含量（μg/mL），x 为吸光值。

1、按照样本蛋白浓度计算：

丙酮酸含量（μg/mg prot）=(y×V1)÷(V1×Cpr)=y ÷Cpr。

蛋白质含量需要另外测定。

2、按照样本鲜重计算：

丙酮酸含量（μg/g 鲜重）= (y×V1)÷(W ×V1÷V2）=y÷W。

3、按照细胞/细菌数量计算

丙酮酸含量（μg/10^4 ceLL） = (y×V1)÷（500×V1÷V2）= y÷500。

4、按照血清体积计算

丙酮酸含量（μg/mL）= (y×V1)÷（V3×V1÷V2）=y×10。

V1：加入反应体系中样本体积，0.075mL；V2：加入提取液体积，1mL；V3：加入血清（浆）体积，0.1mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500 万。