



丙酮酸(PA)含量检测试剂盒(可见分光光度法)

货号: R41776

规格: 50T

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
提取液ES06	50ml×1	4℃保存
R41776-A	8ml×1	4℃避光保存
R41776-B	35ml×1	4℃保存
R41776-标准品	1ml×1(1mg/ml)	4℃保存

简介

意义: 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。

原理: 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。

自备用品:

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1ml 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

样品处理(丙酮酸提取):

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 (10^4 个): 提取液 ES06 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 ES06), 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, 25℃离心 10min, 取上清待测。



2. 组织: 按照组织质量 (g): 提取液 ES06 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 ES06), 进行冰浴匀浆, 静置 30min, 8000g, 25℃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 ES06 体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议取0.1mL 血清 (浆) 加入 1mL 提取液 ES06), 进行冰浴匀浆, 静置 30min, 8000g, 25℃离心 10min, 取上清待测。

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. 标准品的准备: 将标准品用蒸馏水稀释至 25、12.5、6.25、3.125、1.5625、0.78125、0μg/mL。
3. 按照下表进行如下操作:

加样名称	测定管(ul)	标准管(ul)
待测样品	300	
标准液		300
R41776-A	100	100
混匀, 静置2min		
R41776-B	500	500
混匀, 于520nm波长处测定各管吸光值A。		

丙酮酸含量计算:

1. 标准曲线的绘制: 以各标准溶液浓度为 x 轴, 以 A 标准为 y 轴做标准曲线, 得到方程 $y=kx+b$; 将 A 测定带入方程求 x 丙酮酸钠含量 (μg/mL) 值。

2. 按照血清 (浆) 体积计算

$$\text{丙酮酸含量 } (\mu\text{g/mL}) = (x \times V_1) \div [V_1 \div (V_2 + V_3) \times V_3] = 11x$$

3. 按照蛋白浓度计算

$$\text{丙酮酸含量 } (\mu\text{g/mg prot}) = (x \times V_1) \div (V_1 \times C_{pr}) = x \div C_{pr}$$

4. 按照样品质量计算

$$\text{丙酮酸含量 } (\mu\text{g/g 鲜重}) = (x \times V_1) \div (W \times V_1 \div V_2) = x \div W$$



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

5. 按照细菌或细胞密度计算

$$\text{丙酮酸含量 } (\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = (x \times V1) \div (500 \times V1 \div V2) = x \div 500$$

注: V1: 加入反应体系中样本体积, 0.3mL; V2: 加入提取液体积, 1 mL;
V3: 加入血清(浆)体积, 0.1 mL; 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。

注意事项

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。



源叶