



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

丙酮酸(PA)含量检测试剂盒(微量法)

货号: R41777

规格: 100T

保质期: 6个月

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
提取液ES06	100ml×1	2-8℃保存
R41777-A	3ml×1	2-8℃避光保存
R41777-B	15ml×1	2-8℃保存
R41777-标准品	1ml×1(1mg/ml)	2-8℃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/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、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°C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°C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°C离心 10min, 取上清待测。

测定步骤:

1. 分光光度计或酶标仪预热 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. 在微量石英比色皿或 96 孔板, 按照下表操作:

加样名称	测定管(ul)	标准管(ul)
待测样品	75	
标准液		75
R41777-A	25	25
混匀, 静置2min		
R41777-B	125	125
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

丙酮酸含量 (μg/mL) = $(x \times V1) \div [V1 \div (V2 + V3) \times V3] = 11x$

3. 按照蛋白浓度计算



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

丙酮酸含量 ($\mu\text{g}/\text{mg prot}$) = $(x \times V1) \div (V1 \times Cpr) = x \div Cpr$

4. 按照样品质量计算

丙酮酸含量 ($\mu\text{g}/\text{g 鲜重}$) = $(x \times V1) \div (W \times V1 \div V2) = x \div W$

5. 按照细菌或细胞密度计算

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, 0.075mL; 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