



# 丙酮酸(PA)含量检测试剂盒

中文名称：[丙酮酸\(PA\)含量检测试剂盒](#)

英文名称：Pyruvate(PA) Content Assay Kit

产品储存：2-8°C

产品包装：盒装

产品规格：50T/48S

检测方法：可见分光光度法

## 产品组成：

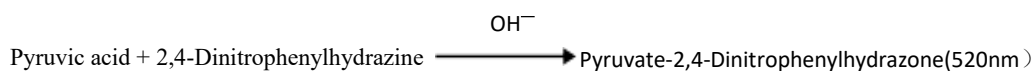
试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂一	液体 7 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂二	液体 30 mL×1 瓶	2-8°C保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8°C保存

## 溶液的配制：

- 1、标准品：20 $\mu$ mol/mL 丙酮酸钠标准溶液。
- 2、0.125 $\mu$ mol/mL 标准溶液的配制：取 50 $\mu$ L 20 $\mu$ mol/mL 标准液和 450 $\mu$ L 蒸馏水混匀，即 2 $\mu$ mol/mL 标准液；再取 50 $\mu$ L 2 $\mu$ mol/mL 标准液和 750 $\mu$ L 蒸馏水混匀即配成 0.125 $\mu$ mol/mL 标准溶液。

## 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，起着重要的枢纽作用。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。



### 技术指标:

低检出限: 0.001  $\mu\text{mol/mL}$

线性范围: 0.0015-0.25  $\mu\text{mol/mL}$

**注意:** 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

### 需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。

### 操作步骤:

#### 一、样本处理(可适当调整待测样本量)

**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<sup>4</sup>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, 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。

**2、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。

**3、血清(浆) 样本等液体:** 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 液体样本加入 1mL 提取液), 进行冰浴匀浆, 静置 30min, 8000g, 常温离心 10min, 取上清待测。

#### 二、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、操作表: (在 1.5mL EP 管中加入下列试剂)

试剂名称(μL)	测定管	标准管	空白管
样本	300	-	-
标准溶液	-	300	-
蒸馏水	-	-	300
试剂一	100	100	100
充分混匀后常温静置 2min			
试剂二	500	500	500
充分混匀后于 520nm 波长处测定吸光值, 记为 A 测定管、A 标准管、A 空白管, 计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{空白管}$ , $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管}$ 。空白管和标准管只需做 1-2 次。			

### 三、丙酮酸含量计算

#### 1、按照血清(浆) 体积计算

$$\text{丙酮酸含量}(\mu\text{mol}/\text{mL}) = \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times C_{标准} \times (V_{提取} + V_{液体}) \div V_{液体} = 0.1375 \\ \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准}$$

#### 2、按照样本蛋白浓度计算

$$\text{丙酮酸含量}(\mu\text{mol}/\text{mg prot}) = \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times C_{标准} \times V_{样本} \div (V_{样本} \times C_{pr}) = 0.125 \\ \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div C_{pr}$$

#### 3、按照样本质量计算

$$\text{丙酮酸含量}(\mu\text{mol}/\text{g 质量}) = \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times C_{标准} \times V_{提取} \div W = 0.125 \times \Delta A_{测定} \\ \div \Delta A_{标准} \div W$$

#### 4、按照细菌或细胞数量计算

$$\text{丙酮酸含量}(\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times C_{标准} \times V_{提取} \div N = 0.125 \times \Delta A_{测定} \\ \div \Delta A_{标准} \div N$$

C 标准: 0.125μmol/mL 标准溶液; V 样本: 加入反应体系中样本体积, 0.3mL; V 提取:



加入提取液体积, 1mL; V 液体: 加入血清(浆) 等液体体积, 0.1mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; N: 细菌或细胞总数, 以万计。

### 三、丙酮酸含量计算

#### 1、按照血清(浆) 体积计算

丙酮酸含量( $\mu\text{mol/mL}$ ) =  $\Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}} \times (V_{\text{提取}} + V_{\text{液体}}) \div V_{\text{液体}} = 0.1375$   
 $\times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}$

#### 2、按照样本蛋白浓度计算

丙酮酸含量( $\mu\text{mol /mg prot}$ ) =  $\Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}} \times V_{\text{样本}} \div (V_{\text{样本}} \times C_{\text{pr}}) = 0.125$   
 $\times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}$

#### 3、按照样本质量计算

丙酮酸含量( $\mu\text{mol /g 质量}$ ) =  $\Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}} \times V_{\text{提取}} \div W = 0.125 \times \Delta A_{\text{测定}} \div$   
 $\Delta A_{\text{标准}} \div W$

#### 4、按照细菌或细胞数量计算

丙酮酸含量( $\mu\text{mol /10}^4 \text{ cell}$ ) =  $\Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}} \times V_{\text{提取}} \div N = 0.125 \times \Delta A_{\text{测定}}$   
 $\div \Delta A_{\text{标准}} \div N$

C 标准: 0.125 $\mu\text{mol/mL}$  标准溶液; V 样本: 加入反应体系中样本体积, 0.3mL; V 提取: 加入提取液体积, 1mL; V 液体: 加入血清(浆) 等液体体积, 0.1mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; N: 细菌或细胞总数, 以万计。

#### 注意事项:

1. 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。
2. 提取液中含有蛋白变性成分, 若使用蛋白浓度计算需要另取样本提取测定。

#### 实验实例:

1. 称取约 0.1171g 兔肝, 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。之后按照测定步骤操作, 用 1mL 玻璃比色皿测得计算 $\Delta A$  测定 = A 测定管 - A 空白管 = 0.570 - 0.101 = 0.469,  $\Delta A$  标准 = A 标准管 - A 空白管 = 0.541 - 0.101 = 0.440, 计算丙酮酸含量得:

$$PA(\mu\text{mol/g 质量}) = 0.125 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div W = 1.138 \mu\text{mol/g 质量}$$

2. 称取约 0.1094g 合欢, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆, 静置 30min, 8000g, 常温离心 10min, 取上清用蒸馏水稀释 2 倍后待测。之后按照测定步骤操作, 用 1mL 玻璃比色皿测得计算 $\Delta A$  测定 = A 测定管 - A 空白管 = 0.886 - 0.101 = 0.785,  $\Delta A$  标准 = A 标准管 - A 空白管 = 0.541 - 0.101 = 0.440, 计算丙酮酸含量得:

$$PA(\mu\text{mol/g 质量}) = 0.125 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div W \times \text{稀释倍数} = 4.077 \mu\text{mol/g 质量}$$

3. 取 50 $\mu$ L 兔血清之后按照测定步骤操作, 用 1mL 玻璃比色皿测得计算 $\Delta A$  = A 测定管 - A 空白管 = 0.146 - 0.101 = 0.045,  $\Delta A$  标准 = A 标准管 - A 空白管 = 0.541 - 0.101 = 0.440, 计算丙酮酸含量得:

$$PA(\mu\text{mol/mL}) = 0.1375 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} = 0.014 \mu\text{mol/mL}$$