

丙酮酸（PA）含量检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AYHC6-M48	丙酮酸含量（PA）检测试剂盒	48T	微量法
AYHC6-M96		96T	

一、测定意义：

丙酮酸是一种重要的中间代谢物，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。

二、测定原理：

样本所含的丙酮酸可与 2, 4-二硝基苯肼反应，生成丙酮酸-2,4-二硝基苯腙，后者在碱性溶液中呈樱红色，可在 520nm 波长下读数。与丙酮酸标准曲线比较，即可求得样品中丙酮酸的含量。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 3mL×1 瓶	液体 6mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	液体 10mL×1 瓶	液体 20mL×1 瓶	2~8℃保存
标准品 (20mmol/L)	液体 1mL×1 支	液体 1mL×2 支	2~8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。

2、细菌、细胞：按照细胞数量 10^4 个：提取液体积（mL）500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），5000 rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

3、血清（浆）等液体：直接测定。

测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 520nm，蒸馏水调零；
- 2、测定前将试剂恢复至室温；
- 3、将 20mmol/L 标准品用提取液依次稀释至 0、0.0625、0.125、0.25、0.5、1mmol/mL，备用；
- 4、操作表（在 96 孔板中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	标准管	空白管
样品（μL）	30	-	-
双蒸水（μL）	-	-	30
不同浓度标准品（μL）	-	30	-
试剂一（μL）	30	30	30
25℃孵育 10min			
试剂二（μL）	150	150	150
静置 1min，显色稳定后于 520nm 读数。测定 520nm 处吸光值，分别记为 $A_{\text{空白}}$ 、 $A_{\text{测定}}$ 。 $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。 (空白管和标准管只做 1-2 管)。			

五、丙酮酸（PA）含量测定：

- 1、标准曲线绘制：以吸光度值为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线 $y=kx+b$ ， x 为吸光度值， y 为标准品浓度（mmol/mL）。根据标准曲线，将 ΔA 带入公式计算出样本浓度（ y ，mmol/mL）

2、液体样本丙酮酸（PA）含量计算

计算公式： $PA \text{ (mmol/mL)} = y \div T = 0.1 \times y$

3、按样本蛋白浓度计算

计算公式： $PA \text{ (mmol/mg prot)} = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 0.1 \times y \div C_{\text{pr}}$

4、按样本鲜重计算

计算公式： $PA \text{ (mmol/g)} = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.1 \times y \div W$

5、按照细菌或细胞数量计算

计算公式： $PA \text{ (mmol/} 10^4 \text{ cell)} = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times N \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.1 \times y \div N$

$V_{\text{样总}}$: 反应体系总体积, 1mL; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.03mL; T:

反应时间, 10min; 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。

六、 注意事项:

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。

【厂家信息】

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司

地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日