

丙酮酸（PA）含量检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC2205

规格：100T/96S、200T/192S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	100T 规格	200T 规格	保存条件
提取液	液体 110 mL×1 瓶	液体 110 mL×2 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 3 mL×1 瓶	液体 6 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 15 mL×1 瓶	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存

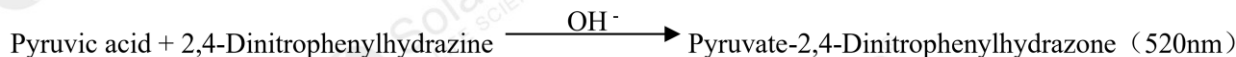
溶液的配制：

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

最低检出限：0.001 μmol/mL

线性范围：0.0015-0.25 μmol/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。

需自备的仪器和用品：

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/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，具体比例可以参考文献）

- 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（10⁴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/酶标仪预热30min以上，调节波长至520nm，分光光度计蒸馏水调零。

2、操作表：（在 1.5mL EP 管或者 96 孔板中加入下列试剂）

试剂名称 (μL)	测定管	标准管	空白管
样本	75	-	-
标准溶液	-	75	-
蒸馏水	-	-	75
试剂一	25	25	25
充分混匀后常温静置 2min			
试剂二	125	125	125

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 ΔA 测定=A 测定管-A 空白管， ΔA 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

$$\text{丙酮酸含量} (\mu\text{mol/mL}) = \Delta A \text{测定} \div \Delta A \text{标准} \times C \text{标准} \times (V \text{提取} + V \text{液体}) \div V \text{液体} = 1.375 \times \Delta A \text{测定} \div \Delta A \text{标准}$$

2、按照样本蛋白浓度计算

$$\text{丙酮酸含量} (\mu\text{mol} / \text{mg prot}) = \Delta A \text{测定} \div \Delta A \text{标准} \times C \text{标准} \times V \text{提取} \div (V \text{提取} \times C_{\text{pr}}) = 0.125 \times \Delta A \text{测定} \div \Delta A \text{标准} \div C_{\text{pr}}$$

3、按照样本质量计算

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

4、按照细菌或细胞数量计算

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

C 标准: 0.125μmol/mL 标准溶液; 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;
C_{pr}: 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:

- 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。
- 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组样本提取测定。

实验实例:

- 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96孔板测得计算 ΔA 测定=A测定管-A空白管=0.544-0.085=0.459， ΔA 标准=A标准管-A空白管=0.436-0.085=0.351，计算丙酮酸含量得：

$$PA (\mu\text{mol/g 质量}) = 0.125 \times \Delta A \text{测定} \div \Delta A \text{标准} \div W = 1.396 \mu\text{mol/g 质量}$$

- 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96孔板测得计算 ΔA 测定=A测定管-A空白管=0.552-0.085=0.467， ΔA 标准=A标准管-A空白管=0.436-0.085=0.351，计算丙酮酸含量得：

$$PA (\mu\text{mol/g 质量}) = 0.125 \times \Delta A \text{测定} \div \Delta A \text{标准} \div W \times \text{稀释倍数} = 3.040 \mu\text{mol/g 质量}$$



3. 取50μL兔血清之后按照测定步骤操作，用96孔板测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}} = 0.125 - 0.085 = 0.040$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.436 - 0.085 = 0.351$ ，计算丙酮酸含量得：
 $PA (\mu\text{mol/mL}) = 1.375 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} = 0.16 \mu\text{mol/mL}$

相关发表文献：

- [1] Lu Y, Bi T, Zhou S, Guo M. MEX3A promotes angiogenesis in colorectal cancer via glycolysis. *Libyan J Med*. 2023 Dec;18(1):2202446. doi: 10.1080/19932820.2023.2202446. PMID: 37155144; PMCID: PMC10167874.
- [2] Li C, Zhang X, Yang B, Wei F, Ren Y, Mu W, Han X. Reversible Deformation of Artificial Cell Colonies Triggered by Actin Polymerization for Muscle Behavior Mimicry. *Adv Mater*. 2022 Aug;34(34):e2204039. doi: 10.1002/adma.202204039. Epub 2022 Jul 17. PMID: 35765153.
- [3] Li C, Wu B, Li Y, Chen J, Ye Z, Tian X, Wang J, Xu X, Pan S, Zheng Y, Cai X, Jiang L, Zhao M. Amino acid catabolism regulates hematopoietic stem cell proteostasis via a GCN2-eIF2 α axis. *Cell Stem Cell*. 2022 Jul 7;29(7):1119-1134.e7. doi: 10.1016/j.stem.2022.06.004. PMID: 35803229.
- [4] Yang R, Yang C, Ma L, Zhao Y, Guo Z, Niu J, Chu Q, Ma Y, Li B. Identification of purine biosynthesis as an NADH-sensing pathway to mediate energy stress. *Nat Commun*. 2022 Nov 17;13(1):7031. doi: 10.1038/s41467-022-34850-0. PMID: 36396642; PMCID: PMC9672040.
- [5] Li C, You X, Xu X, Wu B, Liu Y, Tong T, Chen J, Li Y, Dai C, Ye Z, Tian X, Wei Y, Hao Z, Jiang L, Wu J, Zhao M. A Metabolic Reprogramming Amino Acid Polymer as an Immunosurveillance Activator and Leukemia Targeting Drug Carrier for T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *Adv Sci (Weinh)*. 2022 Mar;9(9): e2104134. doi: 10.1002/advs.202104134. Epub 2022 Jan 26. PMID: 35080145; PMCID: PMC8948613.

参考文献：

- [1] Venkatesh C, Ramalingam K. Lactic acid, pyruvic acid and lactate/pyruvate ratio in the Anoplocephalid tapeworm *Stilesia globipunctata* infecting sheep (*Ovis aries*) [J]. *Veterinary parasitology*, 2007, 144(1-2): 176-179.
- [2] Randle W M, Bussard M L, Warnock D F. Ontogeny and Sulfur Fertility Affect Leaf Sulfur in Short-day Onions [J]. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 1993, 118(6): 762-765.

相关系列产品：

- BC0740/BC0745 己糖激酶（HK）活性检测试剂盒
BC0540/BC0545 丙酮酸激酶（PK）活性检测试剂盒
BC0530/BC0535 磷酸果糖激酶（PFK）活性检测试剂盒
BC2250/BC2255 3-磷酸甘油酸激酶（PGK）活性检测试剂盒

