

丙酮酸（PA）含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

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：BC2200

规格：50T/48S

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

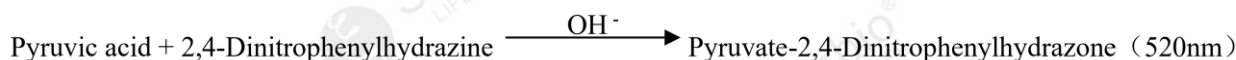
溶液的配制：

- 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、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，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 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

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

3、按照样本质量计算

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

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：

- 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1mL玻璃比色皿测得计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}} = 0.570 - 0.101 = 0.469$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.541 - 0.101 = 0.440$ ，计算丙酮酸含量得：
 $\text{PA} (\mu\text{mol/g 质量}) = 0.125 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 1.138 \mu\text{mol/g 质量}$
- 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 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}} = 0.886 - 0.101 = 0.785$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.541 - 0.101 = 0.440$ ，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 μL 兔血清之后按照测定步骤操作, 用1mL玻璃比色皿测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}} = 0.146 - 0.101 = 0.045$,
 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.541 - 0.101 = 0.440$, 计算丙酮酸含量得:

$PA (\mu\text{mol/mL}) = 1.375 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} = 0.14 \mu\text{mol/mL}$

相关发表文献:

- [1] Jiang TT, Ji CL, Yu LJ, Song MK, Li Y, Liao Q, Wei T, Olatunji OJ, Zuo J, Han J. Resveratrol-induced SIRT1 activation inhibits glycolysis-fueled angiogenesis under rheumatoid arthritis conditions independent of HIF-1 α . *Inflamm Res*. 2023 May;72(5):1021-1035. doi: 10.1007/s00011-023-01728-w. Epub 2023 Apr 4. PMID: 37016140.
- [2] Zhang Y, Yuan D, Li Y, Yang F, Hou L, Yu Y, Sun C, Duan G, Meng C, Yan H, Li D, Gao Y, Sun T, Zhu C. Paraquat promotes acute lung injury in rats by regulating alveolar macrophage polarization through glycolysis. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2021 Oct 15; 223:112571. doi: 10.1016/j.ecoenv.2021.112571. Epub 2021 Aug 2. PMID: 34352584.
- [3] Chen R, Ma T, Du S, Luo J, Zhang H, Xu X, Cao Z, Yuan Z, Sun H, Liu M, Xiong B, Shi Q, Liu JY. Impaired fertility in 4930590J08Rik mutant male mice is associated with defective sperm energy metabolism. *FASEB J*. 2022 Dec;36(12):e22634. doi: 10.1096/fj.202200805RR. PMID: 36331537.
- [4] Li F, Liu H, Wu X, Song Z, Tang H, Gong M, Liu L, Li F. Tetrathiomolybdate Decreases the Expression of Alkaline Phosphatase in Dermal Papilla Cells by Increasing Mitochondrial ROS Production. *Int J Mol Sci*. 2023 Feb 4;24(4):3123. doi: 10.3390/ijms24043123. PMID: 36834536; PMCID: PMC9960908.
- [5] Liu Y, He L, Liu B, Ying Y, Xu J, Yu M, Dang J, Liu K. Pharmacological inhibition of sphingolipid synthesis reduces ferroptosis by stimulating the HIF-1 pathway. *iScience*. 2022 Jun 6;25(7):104533. doi: 10.1016/j.isci.2022.104533. PMID: 35784791; PMCID: PMC9240796.

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

