

CheKine™ 丙酮酸 (PA) 含量检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB1121

规格: 48 T/48 S

96 T/96S

批号: 见产品标签

	检测范围: 1.094-70 µg/mL		灵敏度: 0.5 µg/mL
	适用样本: 动植物组织、细胞、细菌、血清 (浆) 或其他液体		
	保质期: 4℃, 避光保存 6 个月		

01 背景与原理

丙酮酸 (PA) 是糖酵解途径的终产物, 它通过乙酰 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。

本试剂盒检测原理是样品中的丙酮酸与 2,4-二硝基苯肼反应, 生成丙酮酸-2,4-二硝基苯腙, 在碱性溶液中呈红色, 该红色化合物在 520 nm 处有最大吸收峰。在一定的浓度范围内, 丙酮酸含量与 520 nm 吸光度成线性关系, 根据标准曲线, 即可计算出样品中丙酮酸含量。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	70 mL	70 mL×2	4℃
Chromogen A	1.75 mL	3.5 mL	4℃, 避光保存
Chromogen B	8.75 mL	17.5 mL	4℃
Standard	1 mL	1 mL	4℃

*请在实验前检查各组分的量; *各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 520 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	PBS (pH 7.4)	标准品及样本稀释用
其他	匀浆器 (组织样本)、恒温箱、制冰机、低温离心机、 可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有 助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存；有一定毒性，注意防护
Chromogen A	即用型；使用前平衡到室温	实验过程中避光放置；4℃避光保存；有刺激性气味，注意防护。
Chromogen B	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存。
Standard	即用型；使用前平衡到室温	浓度为 1 mg/mL。4℃保存。

05-1-2 标准品配制

使用 Extraction Buffer 将 1 mg/mL 的标准品稀释为 70 µg/mL、35 µg/mL、17.5 µg/mL、8.75 µg/mL、4.375 µg/mL、2.188 µg/mL、1.094 µg/mL 的标准品工作液，以 Extraction Buffer 作为空白孔。

标准品工作液	标准品 (µL)	Extraction Buffer (µL)	浓度 (µg/mL)
1	35 µL 1 mg/mL	465	70
2	200 µL 70 µg/mL	200	35
3	200 µL 35 µg/mL	200	17.5
4	200 µL 17.5 µg/mL	200	8.75
5	200 µL 8.75 µg/mL	200	4.375
6	200 µL 4.375 µg/mL	200	2.188
7	200 µL 2.188 µg/mL	200	1.094
空白	0	200	0

05-2 样本制备

注意：1.推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存1个月；2.因 Extraction Buffer 中含有蛋白质变性剂，因此上清液不能用于蛋白浓度测定。如需测定蛋白含量，需另取相同样本，把 Extraction Buffer 换成去离子水提取制备。如需测定蛋白浓度，推荐使用 Abbkine 货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）进行样本蛋白质浓度测定。

- **动物组织**：称取约 0.1 g 组织样本，加入 1 mL Extraction Buffer 匀浆，静置 30 min，4000 g，常温离心 10 min，取上清液于新离心管中，置冰上待检测。
- **植物组织**：称取约 0.1 g 组织样本，加入 1 mL Extraction Buffer 匀浆，然后超声波破碎 5 min（功率 20% 或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），静置 30 min，4000 g，常温离心 10 min，取上清液于新离心管中，置冰上待检测。
- **细胞或细菌样本**：收集 5×10^6 个细胞，用预冷的 PBS 清洗细胞或细菌，800 g 离心 2 min 后弃上清，加入 1 mL Extraction Buffer，超声波破碎 5 min（功率 20% 或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），静置 30 min，4000 g，常温离心 10 min，取上清液于新离心管中，置冰上待检测。
- **血浆和血清（其他生物体液）**：取 100 μ L 血清（浆）加入 1 mL Extraction Buffer，充分混匀，静置 30 min，4,000 g，常温离心 10 min，取上清液，置冰上待测。

05-3 实验步骤

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 520 nm。
2. 检测体系配制：按如下体系在酶标板中进行检测体系配制。标准曲线一般只做 1 次。

试剂	标准孔 (μ L)	测定孔 (μ L)
样本	0	75
Standard	75	0
Chromogen A	25	25
混匀后，室温静置 2 min		
Chromogen B	125	125

3. 吸光度检测：混匀，在 520 nm 处读取吸光度值，分别标记为 $A_{\text{空白}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 和 $A_{\text{测定}}$ 。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn)>进入“技术中心”>查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。

2. 标准曲线绘制

以标准品浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线。将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 代入方程得到 y 值 (μ g/mL)。

3. 样本 PA 含量计算

- 按样本质量计算

$$\text{PA 含量 } (\mu\text{g/g}) = y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div W \times n$$

- 按细胞或细菌数量计算:

$$\text{PA 含量 } (\mu\text{g}/10^4) = y \times V_{\text{样}} \div (N \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div N \times n$$

- 按液体体积计算

$$\text{PA 含量 } (\mu\text{g/mL}) = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{液}} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = 10 \times y \times n$$

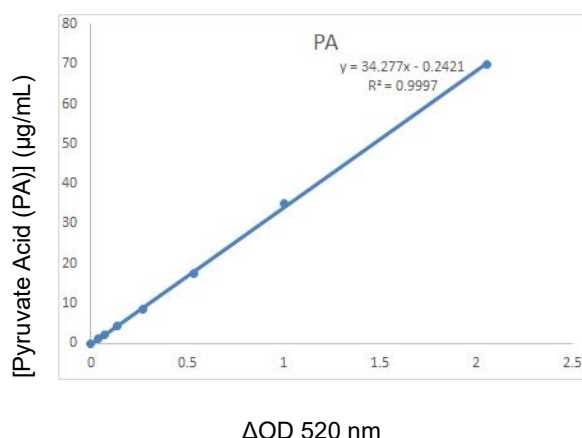
- 按照样本蛋白浓度计算

$$\text{PA 含量 } (\mu\text{g/mg}) = y \times V_{\text{样}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \times n = y \div \text{Cpr} \times n$$

$V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.075 mL; n : 样品稀释倍数; W : 样品质量, g; $V_{\text{样总}}$: 样本提取体积, 1 mL; Cpr : 样本蛋白质浓度 mg/mL; N : 细胞或细菌数量, 以 10^4 为单位 (例如细胞数量为 5×10^6 , $N=500$); $V_{\text{液}}$: 液体样本体积, 0.1 mL; n : 样本稀释倍数。

07 结果展示

典型标准曲线: $y=34.277x-0.2421$, $R^2=0.9997$



示例-1: 取 100 μL 兔血清, 按照测定步骤操作, 用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 0.102 - 0.085 = 0.017$, 代入标准曲线, 计算 $y=0.341$ 。按液体体积计算得: $\text{PA 含量 } (\mu\text{g/mL}) = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{液}} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = 10 \times y \times n = 10 \times 0.341 \times n = 3.41 \mu\text{g/mL}$ 。

08 FAQ

- 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办?

如果样本 $\Delta A_{\text{测定}} > 2.0$, 则说明样本 PA 含量太高, 需用 Extraction Buffer 适当稀释 (计算公式中乘以相应稀释倍数)。如果样本的 $\Delta A_{\text{测定}} < 0.04$, 可提高样本量。

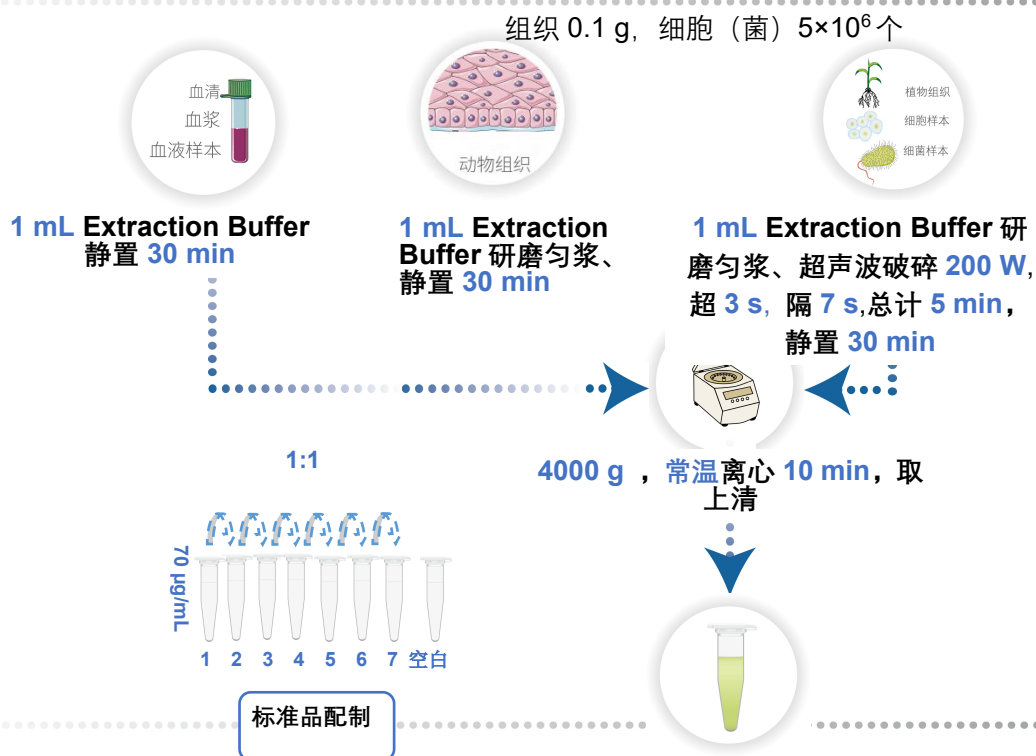
09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1010	CheKine™ 辅酶 II NADP (H) 含量检测试剂盒 (微量法)
KTB1020	CheKine™ 辅酶 I NAD (H) 含量检测试剂盒 (微量法)
KTB1400	CheKine™ 一氧化氮 (NO) 含量检测试剂盒 (微量法)

CheKine™ 丙酮酸 (PA) 含量检测流程示意图

(Abbkine 货号: KTB1121)

样本处理



体系配置



数据检测

测定 520 nm 吸光度
结果计算