

D-乳酸检测试剂盒(WST-8法)

产品编号	产品名称	包装
S0204S	D-乳酸检测试剂盒(WST-8法)	100次

产品简介:

- 碧云天研发的D-乳酸检测试剂盒(WST-8法) (D-Lactate Assay Kit with WST-8)是一种基于WST-8的显色反应, 通过比色法快速、高灵敏地对血清或血浆等生物体液、细胞或组织样品以及牛奶的发酵产品等食品中D-乳酸与D-乳酸盐含量进行检测的试剂盒。
- 乳酸(Lactic acid, LA), 是一种含有羟基的羧酸, 化学名为2-羟基丙酸、 α -羟基丙酸、丙醇酸, 分子式为 $C_3H_6O_3$, 分子量为90.08。根据其碳原子不对称性(即手性碳), 乳酸以右旋型D-乳酸(D(-)-Lactate)、左旋型L-乳酸(L(+)-Lactate)两种旋光异构体形式存在, 两者等比例混合即为消旋的DL-乳酸。
- L-乳酸由脑、红细胞、骨骼肌和肠产生, 由肝脏、心脏和肾脏代谢, 人体产生的乳酸几乎全部为L-乳酸。L-乳酸主要由肝脏从血液中清除, 缺氧、酸中毒、供氧和低灌注会损害肝脏对L-乳酸的摄取, 血液中的L-乳酸浓度对于重症监护和手术期间患者状况的诊断至关重要。高浓度的L-乳酸能指示肠梗塞、心脏骤停和败血症等疾病, 唾液中L-乳酸浓度可作为囊性纤维化的早期诊断指标, L-乳酸也是能量代谢、脑和肿瘤细胞的生物标志物。在食品领域, L-乳酸在发酵过程中被用作质量、新鲜度、风味、稳定性、储存寿命的指示剂[1]。
- D-乳酸主要来源于胃肠道细菌和外源性摄入, 在组织中的产生量非常低, 由于甲基乙二醛(Methylglyoxal, MGO)代谢作用, 一般以纳摩尔浓度存在于哺乳动物的血液中[2], 在食品领域, D-乳酸可由乳酸菌产生, 存在于许多乳制品饮料和腌制品中, 比如酸奶、腌菜、腌肉等。在一些胃肠道疾病中, 细菌D-乳酸的产生和从肠道进入血液的吸收会增加, 进而导致肠道屏障受损引发炎症[3]。体内D-乳酸的过度积累可能导致潜在的危及生命的D-乳酸酸中毒(D-lactic acidosis or D-lactate encephalopathy)。D-乳酸酸中毒是一种罕见的神经系统综合征, 主要发生在短肠综合征患者或空肠-回肠旁路手术后。症状通常出现在摄入高碳水化合物后, 吸收不良的碳水化合物由结肠中的异常菌群发酵产生过量的D-乳酸[4]。因此, D-乳酸含量的测定对于监测细菌感染、短肠综合征、败血症等疾病具有重要生理学意义, 或可作为肠道屏障完整性的标志[5]。
- 本试剂盒的检测原理如图1所示。D-乳酸在D-乳酸脱氢酶(D-Lactate dehydrogenase, D-LDH)的作用下氧化生成丙酮酸(Pyruvate), 在这一过程中 NAD^+ 还原为NADH; 生成的NADH在电子耦合试剂1-mPMS (1-Methoxy-5-methylphenazinium methyl sulfate)的作用下将WST-8还原成橙黄色的Formazan, 在450nm左右有最大吸收峰。反应体系中生成的Formazan与样品中D-乳酸含量呈正比。

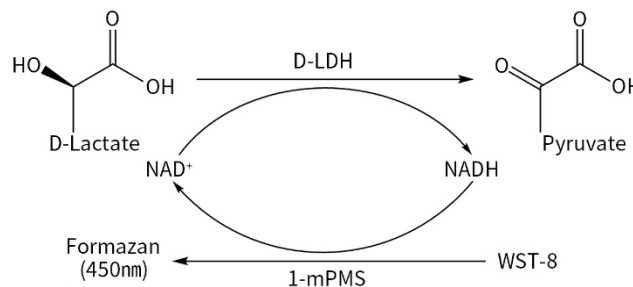


图1. 碧云天D-乳酸检测试剂盒(WST-8法) (S0204)的检测原理图。

- 本试剂盒检测灵敏度高, 线性范围宽, 样品用量少。本试剂盒能特异性检测D-乳酸, 而不检测L-乳酸, 在样品体积为50 μ l时可检测含量低至20 μ M的D-乳酸, 在0.02mM-1mM (1nmol-50nmol)浓度范围内有良好的线性关系。本试剂盒提供了D-乳酸标准溶液, 可以通过设置标准曲线(图2), 从而计算出样品中的D-乳酸含量。

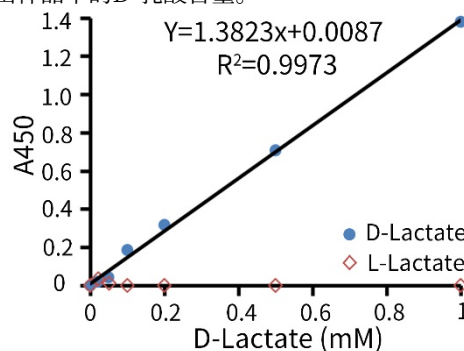


图2. 碧云天D-乳酸检测试剂盒(WST-8法) (S0204)检测D-乳酸标准品的标准曲线。实际检测数据会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。

- **本试剂盒提供的检测裂解液有一定的通用性。**使用本试剂盒中的BeyoLysis™ Buffer A for Metabolic Assay裂解获得的细胞或组织样品，也可以用于碧云天生产的其它代谢类试剂盒中同样使用BeyoLysis™ Buffer A for Metabolic Assay进行裂解的样品检测，通用性强；而且还可用于检测蛋白浓度、进行SDS-PAGE或一些较易溶解蛋白的Western检测。
- **本试剂盒检测使用灵活，检测速度快，适用范围广。**本试剂盒可用于小鼠、大鼠、人等的血清、血浆、尿液等生物体液，细胞培养上清、组织或细胞样品以及牛奶和发酵产品等食品的检测，全程约0.5-1小时即可完成。本试剂盒不仅适合少量样本的检测，也非常适合高通量筛选(High-throughput screening)的自动化操作系统。
- 用96孔板进行检测时，本试剂盒小包装可以进行100次检测。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
S0204S-1	BeyoLysis™ Buffer A for Metabolic Assay	20ml
S0204S-2	Lactate Assay Buffer	20ml
S0204S-3	Enzyme Solution	200μl
S0204S-4	Substrate	200μl
S0204S-5	WST-8	200μl
S0204S-6	D-Lactate Standard (100mM)	20μl
—	说明书	1份

保存条件：

-20℃保存，一年有效。其中WST-8须-20℃避光保存。

注意事项：

- 本试剂盒仅能检测D-乳酸，不能检测L-乳酸。如需检测L-乳酸，可使用碧云天的L-乳酸检测试剂盒(WST-8法) (S0208)。
- BeyoLysis™ Buffer A for Metabolic Assay、Lactate Assay Buffer需完全解冻并平衡至室温后再使用，否则会影响检测结果。其它试剂使用时应在冰上进行。
- 底物从-20℃取出在融解过程中可能会有析出，平衡至室温后析出的部分会复溶，不会对检测结果产生影响。
- 血清、血浆等样品如在4℃保存，保存时间不得超过2周，否则会影响检测结果的准确性。通常血清样品宜在-20℃或-80℃保存。
- 为减少稀释液产生的背景带来的误差，样品和标准品的稀释液应该根据样品的种类来定。当样品为细胞或组织的裂解样品时，应使用BeyoLysis™ Buffer A for Metabolic Assay稀释，当样品为血液等其他样品时，宜使用Lactate Assay Buffer稀释。
- 本试剂盒仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 样品的制备：

- 血液样品的准备：**对于血清样品，将全血在常温如25℃下放置30分钟至2小时，不要剧烈摇晃以免溶血，待全血自然凝固并析出血清后，4℃约1000-2000×g离心10分钟，取黄色上清即得血清，注意不要吸取白色或淡黄色沉淀；对于血浆样品，将全血用肝素或者EDTA进行抗凝，4℃约1000-2000×g离心10分钟，取黄色或淡黄色上清即得血浆，注意不要吸取白色沉淀。血清和血浆都需置于冰上，如果不能立即检测，也可以分装并短期保存于-20℃或-80℃。对于冻存的样品，在检测前解冻后冰浴存放备用，使用前必须混匀。
- 细胞或组织样品的准备：**对于培养的贴壁细胞，PBS (C0221A)洗涤一次并吸净残留液体。对于培养的悬浮细胞，先适当离心(如100-500×g, 5分钟)收集细胞到离心管内，弃上清并吸净残留液体。按照每100万细胞加入100μl-200μl BeyoLysis™ Buffer A for Metabolic Assay的比例加入裂解液，适当吹打，冰浴5-10分钟以充分裂解细胞。4℃约12,000×g离心3-5分钟，取上清用于后续检测。对于组织样品，按照每10mg组织加入100μl BeyoLysis™ Buffer A for Metabolic Assay，用TissueMaster™高通量组织研磨仪(1.5/2ml×48) (E6618)、Tissue Master™手持式组织研磨仪(E6600)或玻璃匀浆器在约4℃或冰浴等低温条件下匀浆。将匀浆液在4℃约12,000×g离心3-5分钟，取上清用于后续检测。以上所有操作均需在4℃或冰上操作。制备好的细胞或组织样品如果不能立即检测，可以置于-20℃或-80℃冻存。
- 细胞培养上清样品的准备：**对于贴壁细胞，直接吸取培养液上清用于后续的测定；对于悬浮细胞，离心后吸取培养液上清用于后续的测定。

2. 试剂盒的准备工作：

- 融解BeyoLysis™ Buffer A for Metabolic Assay、Lactate Assay Buffer，平衡至室温后混匀备用，其它试剂存放于冰浴备用，使用完毕后宜立即按照试剂盒要求的条件保存。
- WST-8显色工作液(WST-8 Working Solution)的配制：**按照每个检测反应50μl的体积配制适量的显色工作液。均匀混合44μl Lactate Assay Buffer, 2μl Enzyme Solution、2μl Substrate, 2μl WST-8, 即可配制成50μl WST-8显色工作液。根据待检测样品(包括标准品)的数量，配制适量的WST-8显色工作液，具体配制方法参考下表。配制好的WST-8显色工作液如果置于4℃或冰浴避光保存，可以在当天使用，但建议尽量现配现用。

Samples	1	10	20	50
Lactate Assay Buffer (μl)	44	440	880	2200
Enzyme Solution (μl)	2	20	40	100
Substrate (μl)	2	20	40	100
WST-8 (μl)	2	20	40	100
WST-8 Working Solution (μl)	50	500	1000	2500

注1: 由于酶溶液的用量较少且易沉降, 必须注意在使用前先轻轻离心一下, 然后适当混匀后再使用。

注2: NADH、NADPH等的存在会对D-乳酸的检测产生干扰。如果样品含有NADH、NADPH, 需同时设置样品的背景对照孔, 加入不含酶溶液的显色工作液, 即配制WST-8显色工作液时2μl Enzyme Solution用Lactate Assay Buffer替代。计算时样品孔的读数值需要减去背景对照孔的读数。

3. D-乳酸标准曲线的设置:

取1μl D-Lactate Standard (100mM), 加入99μl BeyoLysis™ Buffer A for Metabolic Assay或Lactate Assay Buffer (如果是细胞或组织裂解样品, 使用BeyoLysis™ Buffer A for Metabolic Assay; 如果是血液等其它样品, 使用Lactate Assay Buffer), 混匀, 配制成100μl浓度为1mM D-Lactate Standard。分别取1mM的D-Lactate Standard 0、1、2.5、5、10、25、50μl加入96孔板的标准品孔中, 并用对应的BeyoLysis™ Buffer A for Metabolic Assay或Lactate Assay Buffer补足至50μl, 此时, 标准曲线的各孔D-乳酸浓度和物质的量分别为0、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5、1mM和0、1、2.5、5、10、25、50nmol。

4. 样品测定:

a. 取50μl步骤1制备的样品至96孔板样品孔中, 同时设置仅含BeyoLysis™ Buffer A for Metabolic Assay或Lactate Assay Buffer的孔为空白对照孔。

注: 为确保数值在标准曲线范围内, 建议样品同时设定多个稀释倍数, 可以进行预实验确定样品的大致浓度, 如果数值不在标准曲线范围内, 可调整样品的稀释倍数。当样品为细胞或组织的裂解样品时, 应使用BeyoLysis™ Buffer A for Metabolic Assay稀释, 当样品为血液等其它样品时, 宜使用Lactate Assay Buffer稀释。此处的样品稀释倍数记为n。

b. 各孔加入WST-8显色工作液50μl, 混匀。37°C避光孵育30分钟。注: 如果吸光度偏低, 即孔板的颜色较浅, 可适当延长反应时间至45或者60分钟; 如果D-乳酸含量较高, 即孔板的颜色较深, 也可以缩短孵育时间为15或者20分钟。

c. 在450nm测定吸光度。

d. 将标准曲线各孔的信号值减去标准品零浓度孔的信号值。建立标准曲线, 并计算样品中D-乳酸的浓度(A), 样品孔的信号值应减去空白对照孔的信号值, 如果样品的背景对照孔信号比较高, 样品的信号值需要减去样品背景对照值。D-乳酸标准曲线可以参考图2, 在0.02-1mM浓度范围内有良好的线性关系。D-乳酸浓度计算公式如下:

$$C(\text{mM}) = A \times n$$

注1: A为步骤4d中根据标准曲线确定的稀释后的样品D-乳酸浓度(mM);

n为步骤4a中样品稀释倍数。

注2: 计算获得的D-乳酸浓度其中包含了D-乳酸和D-乳酸根的摩尔浓度, 也可以理解为包含了D-乳酸和D-乳酸盐的摩尔浓度。上述仅为了表述方便, 仅描述为D-乳酸。如有必要, 可根据D-乳酸根的分子量89.07计算出样品中D-乳酸根的质量浓度(μg/ml) = $C \times 0.08907$ 。

参考文献:

- Rattu, G., Khansili, N., Maurya, V.K. et al. Environ Chem Lett 19.2021. 1135–1152.
- Ewaschuk JB, Naylor JM, Zello GA. J Nutr. 2005. 135(7):1619-25.
- Li X, Yang Y, Zhang B, Lin X, Fu X, et al. Signal Transduct Target Ther. 2022. 7(1):372.
- Petersen C. Nutr Clin Pract. 2005. 20(6):634-45.
- Remund B, Yilmaz B, Sokollik C. Children (Basel). 2023. 10(6):945.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
C0016/C0017	乳酸脱氢酶细胞毒性检测试剂盒	100次/500次
C0018S/M	乳酸脱氢酶细胞毒性检测试剂盒(WST-8法)	100次/500次
S0110S	黄嘌呤氧化酶活性检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0111S	黄嘌呤氧化酶抑制剂筛选试剂盒(WST-8法)	100次
S0112S/M	Amplex Red黄嘌呤氧化酶活性检测试剂盒	100次/500次
S0113S	Amplex Red黄嘌呤氧化酶抑制剂筛选试剂盒	100次
S0114S	黄嘌呤/次黄嘌呤检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0204S	D-乳酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0208S	L-乳酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0211S/M	Amplex Red胆固醇与胆固醇酯检测试剂盒	100次/500次
S0215S/M	Amplex Red游离脂肪酸检测试剂盒	100次/500次
S0219S/M	Amplex Red甘油三酯检测试剂盒	100次/500次

S0223S/M	Amplex Red甘油检测试剂盒	100次/500次
S0227S	Amplex Red L-乳酸检测试剂盒	100次
S0231S	Amplex Red尿酸与尿酸酶检测试剂盒	100次
S0235S	Amplex Red磷酸盐检测试剂盒	100次
S0239S	Amplex Red乙醇检测试剂盒	100次
S0243S/M	Amplex Red黄嘌呤/次黄嘌呤检测试剂盒	100次/500次
S0247S	Amplex Red谷氨酸与谷氨酸氧化酶检测试剂盒	100次
S0251S	Amplex Red过氧化氢与过氧化物酶检测试剂盒	100次
S0255S	Amplex Red过氧化氢酶检测试剂盒	100次
S0259S	Amplex Red单胺氧化酶检测试剂盒	100次
S0263S	Amplex Red鞘磷脂酶检测试剂盒	100次
S0267S	Amplex Red胆碱与乙酰胆碱检测试剂盒	100次
S0271S	Amplex Red乙酰胆碱酯酶检测试剂盒	100次
S0275S	Amplex Red磷脂酰胆碱检测试剂盒	100次
S0279S	Amplex Red磷脂酶D检测试剂盒	100次
S0283S	Amplex Red肌酸检测试剂盒	100次
S0287S	Amplex Red肌酸激酶检测试剂盒	100次
S0291S	Amplex Red肌酐检测试剂盒	100次
S0295S	Amplex Red肌氨酸检测试剂盒	100次
S0299S	Amplex Red丙酮酸检测试剂盒	100次
S0303S	Amplex Red丙酮酸激酶检测试剂盒	100次
S0307S	Amplex Red ADP检测试剂盒	100次
S0311S	Amplex Red磷酸烯醇式丙酮酸检测试剂盒	100次
S0315S	Amplex Red丙氨酸检测试剂盒	100次
S0319S	Amplex Red丙氨酸转氨酶检测试剂盒	100次
S0323S	Amplex Red α -酮戊二酸检测试剂盒	100次
S0327S	Amplex Red天冬氨酸检测试剂盒	100次
S0331S	Amplex Red天冬氨酸氨基转移酶检测试剂盒	100次
S0335S	Amplex Red柠檬酸检测试剂盒	100次
S0339S	Amplex Red草酰乙酸检测试剂盒	100次
S0343S	Amplex Red葡萄糖检测试剂盒	100次
S0347S	Amplex Red葡萄糖氧化酶检测试剂盒	100次
S0351S	Amplex Red果糖检测试剂盒	100次
S0355S	Amplex Red乳糖检测试剂盒	100次
S0359S	Amplex Red半乳糖与乳糖检测试剂盒	100次
S0363S	Amplex Red半乳糖与半乳糖氧化酶检测试剂盒	100次
S0367S	Amplex Red麦芽糖检测试剂盒	100次
S0371S	Amplex Red麦芽糖与葡萄糖检测试剂盒	100次
S0375S	Amplex Red糖原检测试剂盒	100次
S0379S	Amplex Red磷酸果糖激酶检测试剂盒	100次
S0383S	Amplex Red乙酰辅酶A检测试剂盒	100次
S0387S	Amplex Red辅酶A检测试剂盒	100次
S0391S	Amplex Red乙酰辅酶A合成酶检测试剂盒	100次
S0511S	L-苹果酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0514S	苹果酸脱氢酶活性检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0517S	延胡索酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0520S	延胡索酸酶活性检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0523S	异柠檬酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0526S	异柠檬酸脱氢酶活性检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0529S	Amplex Red琥珀酸检测试剂盒	100次
S0530S	琥珀酸脱氢酶活性检测试剂盒(显色法)	100次
S0532S	Amplex Red琥珀酰辅酶A合成酶检测试剂盒	100次

S0535S	支链氨基酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0538S	N-乙酰氨基葡萄糖苷酶活性检测试剂盒(显色法)	100次
S0540S	酪氨酸检测试剂盒(显色法)	100次
S0542S	酪氨酸酶活性检测试剂盒(显色法)	100次
S0545S	酪氨酸酶抑制剂筛选试剂盒(显色法)	100次
S0547S	髓过氧化物酶活性检测试剂盒(显色法)	100次
S0548S	Amplex Red髓过氧化物酶活性检测试剂盒	100次
S0550S	Amplex Red髓过氧化物酶抑制剂筛选试剂盒	100次

Version 2024.07.29