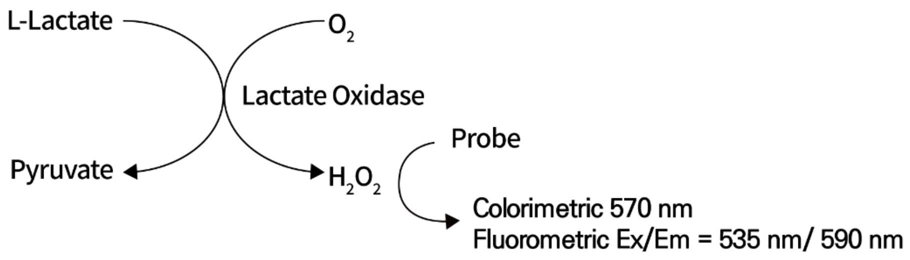
PicoSens™ Lactate Assay Kit

(Colorimetric / Fluorometric)

BM-LAC-100, 100 assays

제품 원리



BIOMAX PicoSens™ Lactate Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric)에서 L-Lactate가 Lactate Oxidase에 의해 산화되며 이 과정에서 발생하는 H_2O_2가 Probe와 반응하여 흡광도 570 nm, 형광 Excitation/Emission = 535 nm/590 nm에서 측정되며 이를 통해 L-Lactate 농도를 확인할 수 있습니다.

제품의 구성 및 보관 조건

Components	Size	Storage
Lactate Assay Buffer	25 ml	-20°C
Lactate Enzyme mix (Lyophilized)	1 vial	
Lactate Probe	200 μl	
Lactate Standard (100 mM)	100 μl	

** 개봉하지 않은 제품은 빛을 차단한 상태에서 -20°C 보관 시 1년간 안정적입니다.*

Copyright©2023 BIOMAX Co, Ltd. All right reserved

검사 필요 장비 및 소모품

- ▶ 96-well Microplate (Clear, Flat bottom)
- ▶ Pipette & Sterile tips
- ▶ Colorimetric microplate reader (570 nm filter) or
  Fluorometric microplate reader (Excitation/Emission = 535 nm/590 nm filter)
- ▶ Dry oven/Heat block (37°C)

실험 전 준비 사항 및 보관 방법

- 제품의 모든 구성품은 상온에서 놔두어 완전히 녹인 후 사용합니다.
- Vial 뚜껑 내부에 시약이 묻어 있을 수 있으니 개봉 전 원심 분리합니다.

Lactate Assay Buffer

사용 후 -20 °C 또는 4 °C에 보관합니다.

Lactate Enzyme Mix

Lactate Assay Buffer 220 µl를 넣고 녹입니다. 사용 후 -20 °C에 보관할 수 있으며 2개월 이내에 사용합니다.

Lactate Probe

사용 후 -20 °C에 보관할 수 있으며 2개월 이내에 사용합니다.

Lactate Standard

사용 후 -20 °C에 보관할 수 있으며 2개월 이내에 사용합니다. 쉽게 산화될 수 있으니 빛 차단에 주의합니다.

Sample type

- Culture medium
- Fermentation medium
- Blood
- Cells

Copyright©2023 BIOMAX Co, Ltd. All right reserved

Sample preparation

Tissue / Cell

Tissues (~10mg), Cells (1~20 X 10^6)의 경우 제공되는 Lactate Assay Buffer를 사용하여 Homogenizer나 Sonicator를 이용하여 분쇄합니다. Sonicator를 쓰실 경우 Ice위에서 사용하여 열이 나는 것을 방지합니다. 완전히 분쇄된 후 10,000 x g에서 약 10 min 간 Centrifuge한 후 Supernatant를 이용하여 실험을 진행합니다. (만약 Serum을 사용할 경우, Serum은 ~0.6 nmol/μl Lactate를 함유하고 있으므로 바로 Lactate Assay Buffer에 희석하여 사용합니다.)

** Cell medium에 FBS가 있는 경우 내부에 LDH (Lactate dehydrogenase)를 함유하고 있기 때문에, Lactate를 Degradation 시킬 수 있습니다. 이 경우에는 Samples을 -80°C에 보관하거나 10kD Molecular weight spin column/filter를 이용해 LDH를 제거한 후 사용합니다.*

※ 시료 결과에 영향을 줄 수 있는 단백질, 지질 또는 Turbidity를 제거하기 위한 전처리가 필요할 시 당사로 문의 바랍니다. (Cat# BM-CAR)

실험 과정

** 미지의 Sample 또는 처음 측정하는 Sample의 경우 측정값이 Standard curve 내에 위치하도록 예비실험 진행한 후 사용을 권장합니다.*
** Sample의 측정 값이 높은 Background 값을 가지면 측정에 사용한 동일 양의 Sample을 Background control로 준비합니다.*
** Standard는 실험할 때마다 Standard solution으로 희석하여 사용하며 희석한 Standard solution은 재사용하지 마십시오.*

Copyright©2023 BIOMAX Co, Ltd. All right reserved

Colorimetric method

Standard preparation

100 mM Lactate Standard 10 µl 와 Lactate Assay Buffer 990 µl를 혼합하여 1 mM Standard solution을 만들어 아래 표와 같이 만듭니다.

STD No.	Vol. of 1 mM Standard solution (µl)*	Assay Buffer (µl)*	Final STD Vol. in well (µl/well)	Final STD Amount in well (nmol/well)
Blank	0	50	50	0
2	2	48	50	2
3	4	46	50	4
4	6	44	50	6
5	8	42	50	8
6	10	40	50	10

** Single test 기준입니다. Duplicate 또는 Triplicate 이상을 권장합니다.*

① 준비된 Sample 2~50 µl를 96-well Microplate에 분주 후 최종 Volume은 Lactate Assay Buffer로 50 µl가 되도록 조정합니다.

② 준비된 Standard solution을 각 Well에 50 µl씩 분주합니다.

③ Reaction mix를 아래와 같이 만들어 준비합니다.

** 높은 Background을 갖는 Sample의 경우 Background control mix를 준비합니다.*

Kit components (Colorimetric)	Mix	
	Reaction (50 µl/well)	Background Control (50 µl/well)
Assay Buffer	46 µl	48 µl
Enzyme Mix	2 µl	0 µl
Probe	2 µl	2 µl

** 50 µl/well 기준으로 Sample과 Standard well 수를 고려하되 총 소요량보다 약 10% 많은 Reaction mix를 준비합니다. (사용 전 Spin-down)*

④ Sample과 Standard solution을 분주한 Well에 혼합한 Reaction mix를 50 µl씩 분주합니다.

** 높은 Background를 갖는 Sample의 경우 준비한 Background control well에 Background control mix 50 µl를 분주합니다.*

⑤ 빛을 차단하여 상온에서 30 min 동안 Incubation 후 Microplate reader로 흡광도 570 nm에서 측정합니다.

Copyright©2023 BIOMAX Co, Ltd. All right reserved

Fluorometric method

Standard preparation

100 mM Lactate Standard 10 μl와 Lactate Assay Buffer 990 μl를 혼합하여 1 mM Standard solution을 만듭니다. 1 mM Standard solution 10 μl와 Lactate Assay Buffer 90 μl를 혼합하여 100 μM Standard solution을 만들어 아래 표와 같이 만듭니다.

STD No.	Vol. of 100 μM Lactate Standard (μl)*	Assay Buffer (μl)*	Final STD Vol. in well (μl/well)	Final STD Amount in well (nmol/well)
Blank	0	50	50	0
2	2	48	50	0.2
3	4	46	50	0.4
4	6	44	50	0.6
5	8	42	50	0.8
6	10	40	50	1.0

** Single test 기준입니다. Duplicate 또는 Triplicate 이상을 권장합니다.*

① 준비된 Sample 2~50 μl를 96-well Microplate에 분주 후 최종 Volume은 Lactate Assay Buffer로 50 μl가 되도록 조정합니다.

② 준비된 Standard solution을 각 Well에 50 μl씩 분주합니다.

③ Reaction mix를 아래와 같이 만들어 준비합니다.

** 높은 Background을 갖는 Sample의 경우 Background control mix를 준비합니다.*

Kit components (Fluorometric)	Mix	
	Reaction (50 μl/well)	Background Control (50 μl/well)
Assay Buffer	47.6 μl	49.6 μl
Enzyme Mix	2 μl	0 μl
Probe	0.4 μl	0.4 μl

** 50 μl/well 기준으로 Sample과 Standard well 수를 고려하되 총 소요량보다 약 10% 많은 Reaction mix를 준비합니다. (사용 전 Spin-down)*

④ Sample과 Standard solution을 분주한 Well에 혼합한 Reaction mix를 50 μl씩 분주합니다.

** 높은 Background를 갖는 Sample의 경우 준비한 Background control well에 Background control mix 50 μl를 분주합니다.*

⑤ 빛을 차단하여 상온에서 30~60 min 동안 Incubation 후 Fluorometric microplate reader로 Excitation/Emission = 535 nm/590 nm에서 측정합니다.

Copyright©2023 BIOMAX Co, Ltd. All right reserved

결과 분석

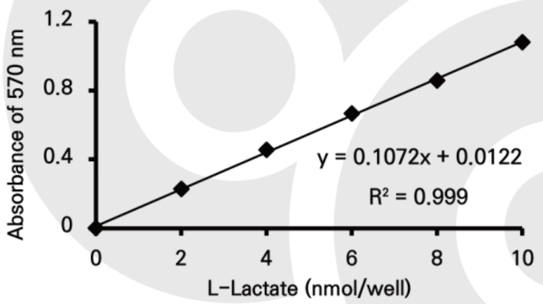
- **L-Lactate molecular weight: 90.08 g/mol**
- 각 Standard well과 Sample well의 Duplicate 또는 Triplicate 측정값의 평균값을 구합니다.
- 모든 측정값에서 Blank 값을 뺍니다.

** Sample background control을 설정한 경우 Sample의 측정값에서 Sample background control 측정값과 Blank 측정 값을 모두 뺍니다.*

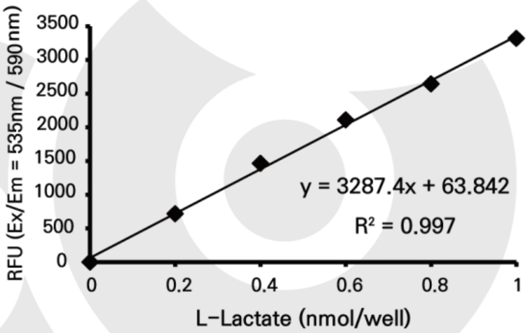
- Standard curve에 Sample의 OD 값을 대입하여 구한 L-Lactate의 양으로 다음 식을 이용하여 Sample 내 L-Lactate의 농도를 구합니다.

C (nmol/μl or umol/ml or mM) = B/V x D

C : Sample 의 L-Lactate 농도 (nmol/μl)
B : 측정 Well 의 L-Lactate 양 (nmol)
V : Well 에 분주한 Sample 의 Volume (μl)
D : Sample 희석 배율



L-Lactate standard curve (Colorimetric)



L-Lactate standard curve (Fluorometric)

Copyright©2023 BIOMAX Co, Ltd. All right reserved

Related products

- BM-GLO-100 PicoSens™ Glucose Assay Kit (Colorimetric / Fluorometric)

**** 안전한 사용을 위해 유해물질 정보는 MSDS를 참조하십시오.***

Homepage : www.biomax.com
Shopping mall : www.biomaxmall.com
E-mail : info@scgbiomax.com
Tel : 02-3296-3158 / Fax : 02-973-2858
(주) 바이오맥스 : 경기 구리시 갈매순환로166번길 46, 금강펜테리움 IX타워 CORE-C, 7층

Copyright©2023 BIOMAX Co, Ltd. All right reserved

Note

Copyright©2023 BIOMAX Co, Ltd. All right reserved