

乳酸脱氢酶（LDH）检测试剂盒

货号：AM0201

分光光度法

产品规格 50T/24S

产品内容

使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	30mL×1 瓶	4℃保存
试剂一	15 mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	粉剂×1 支, 用时加入 1.3 mL 蒸馏水充分溶解备用，现配现用	4℃保存
试剂三	15 mL×1 瓶	4℃保存
试剂四	50mL×1 瓶	4℃保存

产品简介

LDH (EC 1.1.1.27) 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，是糖酵解途径的末端酶，催化丙酮酸与乳酸之间的可逆反应，伴随着 NAD^+/NADH 之间互变。

测定原理

LDH 催化 NAD^+ 氧化乳酸生成丙酮酸，丙酮酸进一步与 2,4-二硝基苯肼作用生成丙酮酸二硝基苯腙，在碱性溶液中显棕红色，颜色深浅与丙酮酸浓度成正比。

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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、恒温水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理 (可适当调整待测样本量)

1. 细菌、细胞或组织样品的制备：

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 (10^4 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），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20% 或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

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。8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

2. 血清（浆）样品：直接检测。

二、测定步骤

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 450nm，蒸馏水调零。

2、样本测定（在 EP 管中加入下列试剂）

试剂名称(μL)	测定管	对照管
样本	50	50
试剂一	250	250
试剂二	50	
蒸馏水		50

充分混匀，37°C（哺乳动物）或 25°C（其它物种）准确水浴 15min

试剂三	250	250
-----	-----	-----

充分混匀，37°C（哺乳动物）或 25°C（其它物种）准确水浴 15min

试剂四	750	750
-----	-----	-----

充分混匀，室温静置 3min，450nm 下测定吸光度，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。
每个测定管需要设一个对照管。

三、LDH 活力单位的计算

1、标准条件下测定的回归曲线， $y = 0.725x$ (x 为标准品浓度，umol/mL；y 为对吸光度)。

2、血清（浆）LDH 活力的计算

单位的定义：每 mL 血清(浆)每分钟催化产生 1nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{LDH (nmol/min /mL)} = \Delta A \div 0.725 \div T \times 10^3 = 92 \times \Delta A$$

3、细胞、细菌和组织中 LDH 活力的计算

（1）按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 1 nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{LDH (nmol/min /mg prot)} = [\Delta A \div 0.725 \times V1] \div (V1 \times Cpr) \div T \times 10^3 = 92 \times \Delta A \div Cpr$$

需要另外测定，建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。

（2）按样本鲜重计算：

单位的定义：每 g 组织每分钟催化产生 1nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{LDH (nmol/min /g 鲜重)} = [\Delta A \div 0.725 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) \div T \times 10^3 = 92 \times \Delta A \div W$$

（3）按细菌或细胞密度计算：

单位的定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟催化产生 1nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{LDH (nmol/min /10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \div 0.725 \times V1] \div (500 \times V1 \div V2) \div T \times 10^3 = 0.184 \times \Delta A \div W$$

V1：加入反应体系中样本体积，0.01mL；V2：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，15 min；

Cpr：蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细胞或细菌总数，500 万。