

乳酸脱氢酶(LDH)检测试剂盒

简介:

乳酸脱氢酶为含锌离子的金属蛋白, 分子量为 135-140kD, 是糖无氧酵解及糖异生的重要酶系之一, 可催化丙酮酸与 L-乳酸之间的还原与氧化反应, 也可催化相关的 α -酮酸。

检测原理: 乳酸 $\xrightarrow{\text{LDH}}$ 丙酮酸

丙酮酸 + 2,4-二硝基苯肼 $\xrightarrow{37^{\circ}\text{C 温浴} + \text{碱}}$ 丙酮酸二硝基苯肼 (红棕色)

试剂盒组分 (具体以收到的产品为准):

名 称	规格 (96 T)
微孔板	1/块
工作液 (试剂二, 试剂五)	2 支
工作液 (试剂一, 试剂三, 试剂四,)	3 瓶
产品说明书	1 份

本试剂盒仅供科学研究使用, 不用于临床诊断! 使用前务必仔细阅读说明书!

使用前请仔细阅读说明书, 如果有任何问题, 请通过以下方式联系我们:

销售部电话: 18968009509, 18968000935, 18969978509

技术部电话: 0571-86733691

邮箱 (技术部): 826710510@qq.com

网址: www.jhnbio.com

具体保质期请见试剂盒外包装标签, 请在保质期内使用试剂盒。

标本处理:

1. 血清 (浆): 直接测定, 如超过线性范围用生理盐水稀释后测定。

Webset: www.jhnbio.com

Tel.: 18968009509, 18968000935, 18969978509

2. 培养液样本：吸取培养液，1000 转/分，离心 10-15 分钟，取上清测定。
3. 组织样本：准确称取组织重量，按重量（g）：体积（mL）=1:9 的比例，加入 9 倍体积的匀浆介质，冰水浴条件下匀浆，25000 转/分，离心 10-15 分钟，取上清测定。
4. 细胞样本：
 - a. 细胞收集：将制备好的细胞悬液取出，1000 转/分，离心 10-15 分钟，弃上清液，取细胞沉淀；用等渗缓冲液（推荐 0.1mol/L、PH7-7.4 磷酸盐缓冲液）清洗 1-2 次，同样 1000 转/分，离心 10-15 分钟，弃上清液，取细胞沉淀。
 - b. 细胞破碎：采用裂解液裂解，裂解好的液体不离心直接测定。

试剂组成及配制：

	组分	96T	保存
试剂一	基质缓冲液	5mL×1 瓶	2~8℃
试剂二	辅酶 I	粉剂×1 支	-20℃
	辅酶 I 溶液配制： 使用前每支粉剂加 1.3mL 双蒸水溶解，溶解后冷冻可保存 2 周，如需多次使用建议分装冷冻（防止反复冻融）（注：辅酶 I 粉剂量较少，可能附着于管壁或盖子上，并非空管，如使用时肉眼不可见，可将其 4000 转/分钟离心 2 分钟后使用）		
试剂三	2, 4-二硝基苯肼	5mL×1 瓶	2~8℃避光
试剂四	4mol/L NaOH	5mL×1 瓶	2~8℃
	0.4mol/L NaOH 溶液配制： 将 4mol/L NaOH 溶液用双蒸水 10 倍稀释，需多少配多少。		
试剂五	2μmol/mL 丙酮酸钠标准液	1mL×1 支	2~8℃
	0.2μmol/mL 丙酮酸钠标准液配制： 取 2μmol/mL 丙酮酸钠标准液用双蒸水 10 倍稀释，现用现配		

注：1、对照孔中不加试剂二(辅酶 I)。

2、严格按照说明书操作，不可先加辅酶 I 再加基质液。

3、本体系可根据需要进行调整（体系总体积不要低于 0.2mL）。

检测步骤：

试剂名称(μL)	空白孔	标准孔	测定孔	对照孔
双蒸水	20	4		4
0.2 μmol/mL 丙酮酸钠标准液		16		16
样本			16	
试剂一	20	20	20	20
试剂二			4	
轻轻振荡孔板混匀，37℃温浴 15 分钟				
试剂三	20	20	20	20
轻轻振荡孔板混匀，37℃温浴 15 分钟				

试剂四	200	200	200	200
轻轻振荡孔板混匀，室温放置 5 分钟，波长 440nm，酶标仪测定吸光度值。				

结果计算：

1、血清（浆）等液体样本乳酸脱氢酶定义及计算公式：

定义：每升样本 37℃与基质作用 15 分钟，在反应体系中产生 1μmol 丙酮酸为 1 单位。

$$\text{LDH 活性 (U/L)} = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \times N \times 1000$$

2、组织、细胞样本乳酸脱氢酶定义及计算公式：

定义：样本中每克蛋白对应的酶量在 37℃与基质作用 15 分钟，使反应体系中产生 1μmol 丙酮酸为 1 单位。

$$\text{LDH 活性 (U/L)} = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \times N \div C_{\text{pr}}$$

注意事项：

N：样本测试前稀释倍数

$C_{\text{标准}}$ ：标准液浓度，0.2 μmol/mL；

1000：单位换算，mL→L

C_{pr} ：样本蛋白浓度，gprot/mL（prot 指蛋白）。

金恒诺
JINHENGNUO