

乳酸脱氢酶 (LDH) 检测试剂盒 (二硝基苯胍微板法)

产品货号: BA1696

产品规格: 50T/100T

产品简介:

乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH或LD)属于氧化还原酶,能够催化氢氧原子或电子从一种底物转移到另一种底物上。乳酸脱氢酶是糖酵解和糖异生的一个极其重要的酶,含有锌离子,广泛分布于人和动物组织、植物和微生物,能可逆的催化乳酸(L)和丙酮酸(P)之间的氧化还原反应。其反应公式: 乳酸+NAD⁺→丙酮酸+NADH+H⁺。其中:L→P为正向反应;P→L为逆向反应。

乳酸脱氢酶(LDH)检测试剂盒(二硝基苯胍微板法)其检测原理是以NAD为受氢体,乳酸脱氢酶催化乳酸脱氢生成丙酮酸,丙酮酸与二硝基苯胍反应生成丙酮酸二硝基苯胍,后者在碱性溶液中呈棕红色,颜色深浅与丙酮酸浓度呈正比,酶标仪检测440nm处吸光度,通过测得的丙酮酸含量计算酶的活性。该方法的优点是:1、试剂原料容易获得;2、较为经典的方法;3、适用于手工操作。该试剂盒仅用于科研领域,不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

试剂名称	50T	100T	保存条件
试剂(A): 丙酮酸标准(50mmol/L)	1ml	1ml	2-8℃, 避光
试剂(B): LDH Assay buffer	3ml	6ml	2-8℃, 避光
试剂(C): NAD Buffer	0.3ml	0.5ml	-20℃
试剂(D): 二硝基苯胍溶液	1.5ml	3ml	2-8℃, 避光
试剂(E): 碱性显色液	5ml	10ml	室温
试剂(F): LDH 保护剂	1 支	1 支	2-8℃, 避光
试剂(G): LDH 保护稀释液	1.5ml	1.5ml	室温

自备材料:

1. 蒸馏水
2. 离心管
3. 恒温箱或水浴锅
4. 酶标仪、96孔板

操作步骤:

1. 准备样品:

- ①血浆、血清样品: 血浆、血清按照常规方法制备,10倍稀释后可以用于本试剂盒的测定,室温保存3天,用于LDH的检测。
- ②细胞或组织样品: 取恰当细胞或组织进行匀浆,低速离心取上清,室温保存3天,用于LDH的检测。
- ③长期保存样品: 如果提取后的样品无法及时检测,需要放置时间较长,按下列方法操作: 取LDH保护剂1支,加入1ml的LDH保护稀释液,配制成LDH保护工作液,-20℃避光保存。按待测样品(如血清): LDH保护工作液=9:1的比例混合,4℃避光保存。
- ④(选做)样品准备完毕后可以用BCA蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度,以便于后续计算单位蛋白重量组织或细胞内的LDH含量。

2. 稀释标准品: 用LDH Assay buffer准确稀释丙酮酸标准(5mmol/L)至0.5mmol/L,按下表稀释系列标准品。

加入物 (ml)	1	2	3	4	5
丙酮酸标准(0.5mmol/L)	0.0125	0.025	0.05	0.075	0.1



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

LDH Assay buffer	0.2375	0.225	0.2	0.175	0.15
相当于 LDH 活力(金氏)单位(U)	125	250	500	750	1000

3. 配制碱性显色工作液：按碱性显色液：蒸馏水=2:3 的比例混合，即为碱性显色工作液。
4. LDH 酶促：按照下表设置空白管、标准孔、对照孔、测定孔，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡。如果样品中酶活性过高，可减少样品用量或适当稀释后再行测定。

加入物(μl)	空白孔	标准孔	对照孔	测定孔
蒸馏水	10	10	5	-
系列丙酮酸标准(1~5号)	-	25	-	-
待测样品(如血清等)	-	-	5	5
LDH Assay buffer	25	-	25	25
混匀，37℃ 孵育 5min。				
NAD Buffer	-	-	-	5
混匀，37℃ 孵育 15min，空白和标准无须 37℃ 孵育。				
二硝基苯胂溶液	25	25	25	25
混匀，37℃ 孵育 15min。				
碱性显色工作液	250	250	250	250

5. LDH 测定：混匀，室温放置 5min，酶标仪 440nm 处测定各孔吸光度(记为 A 空白、A 标准、A 对照、A 测定)。

计算：

LDH 活性单位的定义：以 100ml 血清，在 37℃ 孵育 15min，LDH 催化底物产生 1 μmol 丙酮酸为一个金氏酶活力单位。根据酶活性定义，计算出样品中的 LDH 活性。

以 LDH 活力(金氏)单位(U)为横坐标，以(A 标准-A 空白)吸光度之差值为纵坐标，绘制标准曲线，用(A 测定-A 对照)吸光度之差值在标准曲线上查出待测样品的 LDH 酶活力单位。

其中：A 标准=标准孔的吸光度
 A 空白=空白孔的吸光度
 A 测定=测定孔的吸光度
 A 对照=对照孔的吸光度

注意：如果待测样品加入 LDH 保护工作液，其结果应除以 0.9。

注意事项：

1. 血清或肝素抗凝血浆检测效果较好，草酸盐、EDTA 抗凝剂对 LDH 活性有抑制作用。
2. 避免使用溶血样本。处理后的样品应及时检测，否则易失效。
3. LD4 和 LD5 对冷不稳定，提取出来的血清样本，不宜冰箱放置，室温放置 2~3 天有效。
4. 比色应在 3~15min 内完成，否则吸光度会下降。
5. 酶促反应中，组织匀浆液取样量为 5~30ul，应相应增加空白和标准中蒸馏水的用量。
6. 如果样品中酶活性过高，可减少样品用量或适当稀释后再行测定。
7. 碱性显色液有一定腐蚀性，请小心操作。
8. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期： 6 个月有效。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com