

乳酸脱氢酶（LDH）活性检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1260

产品规格：50管/24样

产品简介：

LDH（EC1.1.1.27）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。

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。

产品组成：

| 试剂名称 | 规格 | 保存条件 |
|------|-----------|-------|
| 提取液 | 液体30mL×1瓶 | 4°C |
| 试剂一 | 液体25mL×1瓶 | 4°C |
| 试剂二 | 粉剂×1支 | -20°C |
| 试剂三 | 液体25mL×1瓶 | 4°C |
| 试剂四 | 液体60mL×1瓶 | 4°C |
| 标准品 | 液体1mL×1支 | 4°C |

溶液的配制：

1. 试剂二：临用时加入1.3mL双蒸水充分溶解备用，配好后可分装成小管-20°C保存，可保存两周，禁止反复冻融；
2. 标准品：2μmol/mL丙酮酸钠溶液。

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/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 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（10⁴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°C离心10min，取上清，置冰上待测。
2. 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°C离心10min，取上清，置冰上待测。
3. 血清（浆）样本：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. 标准品的配制：取100μL标准液，用蒸馏水倍比稀释至1、0.5、0.25、0.125、0μmol/mL，用2、1、0.5、0.25、0.125、0μmol/mL标准液做标准曲线。
3. 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 | 标准管 |
|----------|-----|-----|-----|
| 样本 | 50 | 50 | - |
| 标准液 | - | - | 50 |
| 试剂一 | 250 | 250 | 250 |



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

| | | | |
|--|-----|-----|-----|
| 试剂二 | 50 | - | - |
| 蒸馏水 | - | 50 | 50 |
| 充分混匀, 37°C (哺乳动物) 或25°C (其它物种) 水浴15min | | | |
| 试剂三 | 250 | 250 | 250 |
| 充分混匀, 37°C (哺乳动物) 或25°C (其它物种) 水浴15min | | | |
| 试剂四 | 750 | 750 | 750 |

充分混匀, 室温静置 3min, 450nm 下测定吸光度, 样本计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。每个测定管需要一个对照管。

三、LDH 活力单位计算

- 标准曲线的绘制: 根据标准管测定值和浓度做标准曲线, y 为标准品浓度, $\mu\text{mol/mL}$; x 为对吸光度 (减去浓度为 0 的标准管的 OD 值)。
- 计算样本丙酮酸的含量, 即将 ΔA 带入回归方程中 (x), 计算 y 值 ($\mu\text{mol/mL}$)。
- 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。

$$\text{LDH (U/mL)} = y \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div T \times 10^3 = 66.7 \times y$$

- 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 1nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{LDH (U/mg prot)} = y \times V_{\text{样}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T \times 10^3 = 66.7 \times y \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本质量计算:

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。

$$\text{LDH (U/g 质量)} = y \times V_{\text{样}} \div (W \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T \times 10^3 = 66.67 \times y \div W$$

(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。

$$\text{LDH (U/10}^4 \text{ cell)} = y \times V_{\text{样}} \div (500 \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T \times 10^3 = 0.133 \times y$$

$V_{\text{样}}$: 反应体系中加入的样本体积, $50\mu\text{L} = 0.05\text{mL}$; $V_{\text{样总}}$: 加入的提取液体积, 1mL ; T : 反应时间, 15min ;

Cpr : 蛋白质浓度, mg/mL ; W : 样本质量, g ; 500 : 细胞或细菌总数, 500 万; 10^3 : 单位换算系数, $1\mu\text{mol/mL} = 10^3\text{nmol/mL}$ 。



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