

## 乳酸脱氢酶(LDH)检测试剂盒(LD-L 比色法)

### 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中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、植物和微生物中,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:  $\text{乳酸} + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{丙酮酸} + \text{NADH} + \text{H}^+$ 。其中:  $\text{L} \rightarrow \text{P}$  为正向反应;  $\text{P} \rightarrow \text{L}$  为逆向反应。

乳酸脱氢酶(LDH)检测试剂盒(LD-L 比色法)是利用乳酸脱氢酶催化上述正反应,即  $\text{L-乳酸} + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{丙酮酸} + \text{NADH} + \text{H}^+$ ,在上述反应过程中乳酸氧化成丙酮酸,同时  $\text{NAD}^+$  氧化成  $\text{NADH}$ ,引起 340nm 处吸光度的升高,其升高速率与样品中 LDH 活性呈正比关系,通过分光光度计或自动分析仪检测 340nm 处吸光度升高速率,通过计算获得乳酸脱氢酶的活性。该 LD-L 法的优点是: 1、乳酸盐和  $\text{NAD}^+$  底物溶液的稳定性比 LD-P 法中的丙酮酸和  $\text{NADH}$  底物溶液好; 2、线性速率反应时间范围较宽; 3、重复性比 LD-P 法和二硝基苯肼法好; 4、准确性比二硝基苯肼法好; 5、适用于自动分析仪。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

名称 \ 编号	ADS025TE0	Storage
	100T	
试剂(A): NAD	1 支	4°C 避光
试剂(B): LD-L Assay buffer	100ml	4°C 避光
试剂(C): LDH 保护剂	1 支	4°C 避光
使用说明书	1 份	

### 自备材料

- 1、离心管或小试管、量筒,精密天平、水浴锅
- 2、1ml 石英比色杯、紫外分光光度计或自动分析仪比色杯
- 3、去离子水、生理盐水

### 操作步骤(仅供参考)

#### 1、准备样品:

①血浆、血清样品: 血浆、血清按照常规方法制备,可以直接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 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、配制 LDH 检测工作液：用精密天平称取 42mg NAD，加入 10ml LD-L Assay buffer 混合溶解，即为 LDH 检测工作液，即配即用。

3、分光光度计测定：按照下表设置测定管，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡。如果样品中的 LDH 浓度过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的检测最好能设置平行管。

加入物(ml)	测定管
待测样品(血清、血浆、体液等)	0.05
LDH 检测工作液(37℃提前预热)	1
混匀，37℃孵育 30s。	

1ml 石英比色杯光径 1cm，立即以紫外分光光度计 340nm 处读取测定管吸光度，记录为 A 测定 1。t min 后再次读取吸光度，记录为 A 测定 2。注意：由于酶促反应时间较短，建议加样时间越短越好，其反应基本在 1~3min 内，其后反应趋于平缓，由于检测仪器、操作手法以及样品酶活性高低等条件的不同，参考值范围会有波动。

4、自动分析仪测定：如果样品中的浓度过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的检测最好能设置平行管。根据实验室的自动分析仪性能，设置参数，下列参数仅供参考：记录待测样品管吸光度的升高速率( $\Delta A/\text{min}$ )。

温度	37℃
波长	340nm
延迟时间	90s
检测时间	180s
待测样品	15 $\mu\text{l}$
LDH 检测工作液	300 $\mu\text{l}$

## 计算

手工比色计算公式： $\text{LDH(U/L)} = \Delta A/\text{min} \times (10^6/6220) \times ((1.05/0.05)) = \Delta A/\text{min} \times 3376$

式中： $\Delta A/\text{min} = (A_{\text{测定 2}} - A_{\text{测定 1}})/t$

t=酶促反应的时间(min)

6220=NADH 的吸光度

2.1=反应液的总体积(ml)

0.1=待测样品体积(ml)

自动分析仪计算公式:  $LDH(U/L)=\Delta A/min \times (10^6/6220) \times (315/15)=\Delta A/min \times 3376$

式中:  $\Delta A/min$ =测定的 340nm 吸光度的升高速率

6220=NADH 的吸光度

315=反应液的总体积( $\mu$ l)

15=待测样品体积( $\mu$ l)

注意: 如果待测样品加入 LDH 保护工作液, 其结果应除以 0.9。

### 参考范围

成年健康人	109 ~ 245U/L
-------	--------------

### 注意事项

- 1、处理后的样品应及时检测, 否则 LD<sub>4</sub> 和 LD<sub>5</sub> 易失效。
- 2、血清或肝素抗凝血浆检测效果较好, 草酸类、EDTA 抗凝剂对 LDH 活性有抑制作用。
- 3、避免使用溶血样品。
- 4、酶促反应的时间一般为 1~3min。时间延长, 反应速率下降。
- 5、本反应需在 340nm 波长条件下测定, 需要紫外分光光度计或全波长酶标仪、石英比色皿或 UV 酶标板进行测定。
- 4、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:** 12 个月。低温运输, 4°C 保存