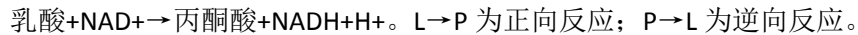


乳酸脱氢酶(LDH)检测试剂盒(LD-P 比色法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

产品简介：

乳酸脱氢酶(lactatedehydrogenase, 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：



乳酸脱氢酶(LDH)检测试剂盒(LD-P 比色法)是利用乳酸脱氢酶催化上述逆反应，即丙酮酸 + NADH + H⁺ → 乳酸 + NAD⁺，在上述反应过程中丙酮酸还原成乳酸，同时 NADH 氧化成 NAD⁺，引起 340nm 处吸光度的下降，其下降速率与标本中 LDH 活性呈正比关系，通过分光光度计或自动分析仪检测 340nm 处吸光度下降速率，通过计算获得乳酸脱氢酶的活性；该 LD-P 法的优点是：1、操作比二硝基苯肼比色法简单；2、重复性好；3、准确性比二硝基苯肼法好；4、适用于自动分析仪。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

名称	规格	保存条件
乳酸脱氢酶(LDH)检测试剂盒	100T	4℃
试剂(A):NADH	2 支	-20℃避光
试剂(B):LD-PAssayBuffer	250ml	RT
试剂(C):丙酮酸溶液	2×1.5ml	4℃
试剂(D):丙酮酸稀释液	30ml	RT
试剂(E):LDH 保护剂	1 支	4℃避光
试剂(F):LDH 保护稀释液	1.5ml	RT
使用说明书	1 份	
有效期	6 个月	

自备材料：

- 1、离心管或小试管
- 2、水浴锅
- 3、比色杯
- 4、分光光度计或自动分析仪

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, 可以直接用于该试剂盒的测定, 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; 接待测样品(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、配制 LDH 检测储存液(10×): 取 1 支 NADH, 按 NADH: LD-PAssayBuffer=1 支: 10ml 的比例混合, 即为 LDH 检测储存液(10×); -20℃保存, 2 月有效。

3、配制 LDH 检测工作液: 取适量的 LDH 检测储存液(10×), 按 LDH 检测储存液(10×): LD-PAssayBuffer=1: 9 的比例混合, 即为 LDH 检测工作液; -20℃保存, 2 周有效。

4、配制丙酮酸工作液: 取适量的丙酮酸溶液, 按丙酮酸溶液: 丙酮酸稀释液=1: 9 的比例混合, 即为丙酮酸工作液; 4℃保存, 1 个月有效。

5、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	2.0
混匀, 37℃孵育 5min。	
丙酮酸工作液(37℃提前预热)	0.2

混匀, 比色杯光径 1cm, 立即以分光光度计 340nm 处读取各管吸光度, 记录为 A 测定 1。每 1min 读取各管吸光度, 记录为 A 测定 2。注意: 由于酶促反应时间极短, 建议加入丙酮酸工作液后立即检测, 加样时间越短越好, 其反应基本在 1~2min 内, 其后反应趋于平缓。标准品检测参考值在 0.1~0.2 之间, 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。

6、自动分析仪测定: 如果样品中浓度过高, 可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:

温度	37℃
----	-----

pH	7.4
波长	340nm
延迟时间	0
检测时间	180s
待测样品	10 μl
LDH 检测工作液	260 μl
丙酮酸工作液	26 μl

记录待测样品管吸光度的下降速率(Δ A/min)。

计算:

手工比色计算公式: $LDH(U/L) = \Delta A/min \times (106/6220) \times (2.25/0.05) = \Delta A/min \times 7235$

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

6220=NADH 的吸光度

2.25=反应液的总体积(ml)

0.05=待测样品体积(ml)

自动分析仪计算公式: $LDH(U/L) = \Delta A/min \times (106/6220) \times (296/10) = \Delta A/min \times 4758.8$

式中: $\Delta A/min = \text{测定的 } 340nm \text{ 吸光度的下降速率}$

6220=NADH 的吸光度

296=反应液的总体积(μl)

10=待测样品体积(μl)

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	200~380U/L
-------	------------

注意事项:

- 1、本法线性范围可达 3000U/L, 当 LDH 浓度高于该范围可使用 LD-PAssayBuffer 适当稀释后再进行检测, 测出结果乘以稀释倍数。
- 2、处理后的样品应及时检测, 否则 LD4 和 LD5 易失效。
- 3、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。
- 4、避免使用溶血样品。