**乳酸脱氢酶(LDH)检测试剂盒(LD-L 微板法**

**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：

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(LD-L微板法)是利用乳酸脱氢酶催化上述正反应，即 L- 乳酸+NAD+ →丙酮酸+NADH+H+ 。在上述反应过程中，乳酸氧化成丙酮酸，同时 NAD+ 氧化成 NADH，引起 340nm 处吸光度的升高。其升高速率与标本中 LDH 活性呈正比关系， 通过酶标仪或自动分析仪检测 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 NAD 底物溶液的稳定性比 LD-P 法中的丙酮酸和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：

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 试剂(A): NAD | 2 支 | -20℃ 避 光 |
| 试剂(B): LD-L Assay buffer | 20ml | 4℃ 避 光 |
| 试剂(C): LDH 保护剂 | 1 支 | 4℃ 避 光 |
| 试剂(D): LDH 保护稀释液 | 1.5ml | RT |

**自备材料：**

1、离心管或小试管

2、水浴锅

3、96 孔板

4、酶标仪或自动分析仪

**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 1.0ml 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、配制 LDH 检测工作液：取 1 支 NAD，按 NAD：LD-L Assay buffer =1 支：10ml 的比例混合，即为 LDH 检测工作液，即配即用，不宜久置。

3、手工比色检测：按照下表设置测定孔，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(μl) 测定孔

待测样品(血清、血浆、体液等) 10

LDH 检测工作液(37℃提前预热) 200

混匀，37℃孵育 30s。

立即于 340nm 处读取各孔吸光度，记录为 A 测定 1。3min 后读取各管吸光度，记录为 A

测定 2。

5、自动分析仪检测：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：

温度波长

延迟时间检测时间待测样品

LDH 检测工作液

37℃ 340nm 90s 180s

15μl 300μl

记录待测样品管吸光度的升高速率(ΔA/min)。

# 计算：

手工比色计算公式：LDH(U/L)=ΔA/min×(10 /6220)×(2.1/0.1)=ΔA/min×3376

式中：ΔA/min=(A 测定 1−A 测定)2/3 6

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)=ΔA/min×(10 /6220)×(315/15)=ΔA/min×3376

式中：ΔA/min=测定的 340nm 吸光度的升高速6 率

6220=NADH 的吸光度

315=反应液的总体积(μl)

15=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 109～245U/L

# 注意事项：

1、 处理后的样品应及时检测，否则 LD4和 LD5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、 避免使用溶血样本。

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 个月有效。