

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成正比,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

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(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
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
---------	-----	-----	-----	-----



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

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。				
二硝基苯肼溶液	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 $1 \mu\text{mol}$ 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

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com