Lactate Dehydrogenase Activity Kit

乳酸脱氢酶（LDH）试剂盒说明书

货号：G0804F | 方法：可见分光法 | 规格：48 样

一、产品简介：

乳酸脱氢酶 LDH（EC 1.1.1.27）是一种氧化还原酶，催化丙酮酸与乳酸之间的相互转化，广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，通常测量 LDH 来评估组织或细胞的损伤状况。

本试剂盒提供一种快速、灵敏的检测方法：乳酸脱氢酶（LDH）催化乳酸和 NAD^+反应生成丙酮酸和 NADH，产生的 NADH 与特异的显色剂反应，产生在 450nm 处有最大吸收峰的黄色物质，通过检测该黄色物质在 450nm 的增加速率，进而计算出乳酸脱氢酶活性的大小。

二、试剂盒的组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 4.2mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 2.1mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 6mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉体 mg×1 支	4℃保存	若重新做标曲，则用到该试剂

【注】：粉剂量在 mg 级别，使用前用手甩几次或者进行离心，打开直接加入要求的试剂即可。

三、所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、恒温水浴锅、台式离心机、可调式移液器、研钵、水浴锅、冰和蒸馏水。

四、乳酸脱氢酶（LDH）活性检测：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品和实验流程，避免样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 组织样本：称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆。12000rpm，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例提取。

② 细菌/细胞样本：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取 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）；12000rpm，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细胞数量(10^4 个):提取液体积(mL)为 1000~5000：1 的比例进行提取。

③ 液体样本：澄清的液体样本直接检测，若浑浊则离心后取上清检测。

2、上机检测：

① 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 450nm，蒸馏水调零。

② 所有试剂解冻至室温（25℃）或置于水浴锅（25℃）中孵育 15-30min。

③ 提取液和试剂一和二和三可按照 560:80:40:80 比例配成混合液（一枪加 760μL 该混合液）（**该混合液用多少配多少，现配现用**）。在 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管
样本	40
提取液	560
试剂一	80
试剂二	40

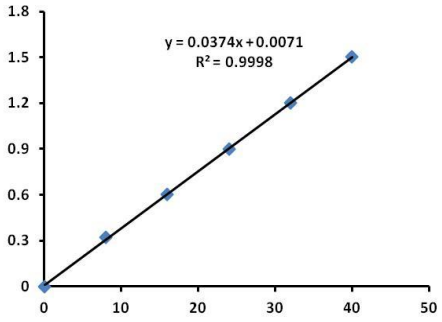
For research use only. Not for use in diagnostic or therapeutic procedures.
本产品仅供科研使用，不得用于临床诊断或治疗。

试剂三	80
混匀，在室温（25℃）下，立即于 450nm 处读取 A1 值，10min 后读取 A2 值，ΔA=A2-A1。	

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标准曲线：y = 0.0374x + 0.0071；x 是 NADH 摩尔质量（nmol），y 是ΔA。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按样本蛋白浓度计算：

酶活性定义：每毫克组织蛋白每分钟催化 1 nmol 乳酸转化成丙酮酸定义为一个酶活力单位。

LDH(nmol/min/mg prot)=[(ΔA-0.0071)÷0.0374]÷(V1×Cpr)÷T=66.9×(ΔA-0.0071)÷Cpr

3、按样本鲜重计算：

酶活性定义：每克组织每分钟催化 1 nmol 乳酸转化成丙酮酸定义为一个酶活力单位。

LDH(nmol/min/g 鲜重)=[(ΔA-0.0071)÷0.0374]÷(W×V1÷V)÷T=66.9×(ΔA-0.0071)÷W

4、按细菌/细胞密度计算：

酶活性定义：每 1 万个细菌/细胞每分钟催化 1 nmol 乳酸转化成丙酮酸定义为一个酶活单位。

LDH(nmol/min/10^4 cell)=[(ΔA-0.0071)÷0.0374]÷(500×V1÷V)÷T=0.134×(ΔA-0.0071)

5、按液体体积计算：

酶活性定义：每毫升液体每分钟催化 1 nmol 乳酸转化成丙酮酸定义为一个酶活力单位。

LDH(nmol/min/mL)=[(ΔA-0.0071)÷0.0374]÷V1÷T=66.9×(ΔA-0.0071)

V---加入提取液体积，1 mL；　　V1---加入样本体积，0.04mL；

T---反应时间，10min；　　W---样本质量，g；

500---细胞或细菌总数；万；

Cpr---蛋白质浓度，mg/mL；建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。

For research use only. Not for use in diagnostic or therapeutic procedures.
本产品仅供科研使用，不得用于临床诊断或治疗。