

Lactate Dehydrogenase (LDH) Activity Assay Kit

乳酸脱氢酶(LDH)活性检测试剂盒 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL853A	乳酸脱氢酶(LDH)活性检测试剂盒 分光法	48T

产品简介:

乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)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。

细胞凋亡或坏死而造成细胞膜结构的破坏会导致细胞浆内的酶释放到培养液里,其中包括酶活性较为稳定的 LDH。通过检测从质膜破裂的细胞中释放到培养液中的 LDH 的活性,可以实现对细胞毒性的定量分析。LDH 释放被看做细胞膜完整性的重要指标,并被广泛用于细胞毒性检测及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。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	液体 4.2mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	液体 2.1mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	液体 6mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉末 ×1 支	4°C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。

使用方法:

建议正式实验前,选取 2 个样本做预测定,了解实验样品情况,熟悉流程,避免样本和试剂浪费!

一、样本准备:

1. 组织样本准备:

(a) 称取约 0.1g 组织加入研钵中,加入 1mL 提取液,进行冰浴匀浆;

(b) 12000rpm, 4°C离心 10min, 取上清液,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/细胞样本准备:

(a) 收集细菌或细胞到离心管内,离心弃上清;

(b) 取 5×10⁶ 个细菌或细胞加入 1mL 提取液,冰浴超声波破碎细菌或细胞(冰浴,强度 20% 或 200W,超声 3S,间隔 10S,重复 30 次);

(c) 12000rpm, 4°C离心 10min, 取上清液,置冰上待测。

【注】:若增加样本量,可按照每 5~10×10⁶ 个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。



3. 液体样本准备:

澄清的液体直接检测; 若浑浊则离心后取上清检测。

二、样品测定:

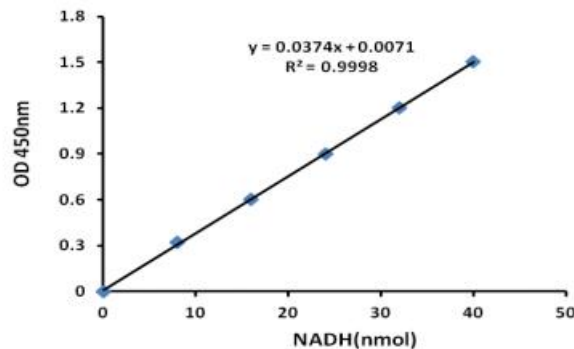
1. 可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 450nm, 蒸馏水调零。
2. 所有试剂解冻至室温 (25°C)。
3. 在 1mL 玻璃比色皿中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管
样本	40
提取液	560
试剂一	80
试剂二	40
试剂三	80
混匀, 在室温 (25°C) 下, 立即于 450nm 处读取 A1 值, 10min 后读取 A2 值, $\Delta A = A2 - A1$ 。	

- 【注】1. 若 ΔA 在零附近, 可以延长反应时间 T (如: 30min 或更长), 或增加样本量 V1 (如增至 80μL, 则提取液相应减少); 则调整后加样体积 V1 和反应时间 T 需代入计算公式重新计算。
2. 若样本自身含有高浓度的还原型物质 (如 VC 等), 需增加一个样本自身对照: 40μL 样本+640μL 提取液+80μL 试剂一+40μL 试剂二, 检测同测定管, $\Delta A = (A2 - A1)_{\text{测定}} - (A2 - A1)_{\text{对照}}$ 。

三、含量计算

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



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。

$$\text{LDH (nmol/min/mg prot)} = [(\Delta A - 0.0071) \div 0.0374] \div (V1 \times Cpr) \div T$$

$$= 66.9 \times (\Delta A - 0.0071) \div Cpr$$

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。

$$\text{LDH (nmol/min/g 鲜重)} = [(\Delta A - 0.0071) \div 0.0374] \div (W \times V1 \div V) \div T$$

$$= 66.9 \times (\Delta A - 0.0071) \div W$$

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。

$$\text{LDH (nmol/min/10}^4 \text{ cell)} = [(\Delta A - 0.0071) \div 0.0374] \div (500 \times V1 \div V) \div T$$

$$= 0.134 \times (\Delta A - 0.0071)$$

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



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。

$$\text{LDH (nmol/min/mL)} = [(\Delta A - 0.0071) \div 0.0374] \div V1 \div T \\ = 66.9 \times (\Delta A - 0.0071)$$

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；500 万

Cpr：蛋白质浓度，mg/mL

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液（1nmol/μL）：向标准品 EP 管里面加入 1.41ml 蒸馏水（母液需在两天内用且-20℃保存）。
- 2 把母液稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1. nmol /μL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 依据测定管的加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。

注意事项：

- 1、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
- 2、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：

4℃保存三个月。

