

乳酸脱氢酶 (LDH) 试剂盒 (微量法)

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1261

产品规格：100管/48样

产品简介：

LDH (EC 1.1.1.27) 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，是糖酵解途径的末端酶，催化丙酮酸与乳酸之间的可逆反应，伴随着 NAD⁺/NADH 之间互变。

LDH 催化NAD⁺氧化乳酸生成丙酮酸，丙酮酸进一步与 2,4-二硝基苯肼作用生成丙酮酸二硝基苯腙，在碱性溶液中显棕红色，颜色深浅与丙酮酸浓度成正比。

产品内容：

提取液：60mL×1瓶，4℃保存；

试剂一：液体7 mL×1瓶，4℃保存；

试剂二：粉剂×1支，-20℃保存，用时加入1.3 mL双蒸水充分溶解备用，配好后-20℃保存，可保存两周，禁止反复冻融；

试剂三：液体7 mL×1瓶，4℃保存；

试剂四：液体25mL×1瓶，4℃保存；

丙酮酸钠标准液：液体1mL×1支，4℃保存，2μmol/ml。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、恒温水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、粗酶液提取：

1、细菌、细胞或组织样品的制备：

细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（10⁴个）：提取液体积（mL）为500~1000：1的比例（建议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）；8000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

组织：按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液），进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

2、血清（浆）样品：直接检测。

3、丙酮酸钠标准液：取100μL标准液，倍比稀释至1、0.5、0.25、0.125、0μmol/mL，用2、1、0.5、0.25、0.125、0μmol/mL 做标准曲线。

二、测定操作：

1、分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至450nm，蒸馏水调零。

2、样本测定

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管
样本	10	10	-
标准液	-	-	10



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q：807961520 731791866

邮箱：shsunbao@126.com

http://www.saint-bio.com

试剂一	50	50	50
试剂二	10	-	-
蒸馏水	-	10	10
充分混匀, 37°C (哺乳动物) 或25°C (其它物种) 水浴15min			
试剂三	50	50	50
充分混匀, 37°C (哺乳动物) 或25°C (其它物种) 水浴15min			
试剂四	150	150	150
充分混匀, 室温静置3min, 取200 μ L转移至微量玻璃比色皿或在96孔板中, 450nm下测定吸光度, 计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。每个测定管需要设一个对照。 根据标准管测定值和浓度做标准曲线, y为标准品浓度, $\mu\text{mol/mL}$; x为对吸光度 (减去浓度为0的标准管的OD值)。			

三、LDH 活力单位计算:

1、计算样品丙酮酸的含量, 即将 ΔA 带入回归方程中 (x), 计算y值

2、血清 (浆) LDH活力的计算

单位的定义: 每mL血清 (浆) 每分钟催化产生1nmol丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{LDH (U/mL)} = y \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div T \times 10^3 = 66.7 \times y$$

3、细胞、细菌和组织中LDH活力的计算

(1) 按样本蛋白浓度计算:

单位的定义: 每mg组织蛋白每分钟催化产生1nmol丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{LDH (U/mg prot)} = y \times V_{\text{样}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T \times 10^3 = 66.7 \times y \div \text{Cpr}$$

需要另外测定, 建议使用本公司BCA蛋白质含量测定试剂盒。

(2) 按样本鲜重计算:

单位的定义: 每g组织每分钟催化产生1nmol丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{LDH (U/g鲜重)} = y \times V_{\text{样}} \div (W \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T \times 10^3 = 66.67 \times y \div W$$

(3) 按细菌或细胞密度计算:

单位的定义: 每1万个细菌或细胞每分钟催化产生1nmol丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{LDH (U/10}^4 \text{ cell)} = y \times V_{\text{样}} \div (500 \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T \times 10^3 = 0.133 \times y$$

V样: 反应体系中加入的样本体积, 10 μ L=0.01mL; V样总: 加入的提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 15 min;

Cpr: 蛋白质浓度, mg/mL; W: 样品质量, g; 500: 细胞或细菌总数, 500万; 10³: 1 $\mu\text{mol/mL}$ =10³nmol/mL。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: shsunbao@126.com

http://www.saint-bio.com