

L-乳酸脱氢酶 (L-LDH) 活性检测试剂盒 (快速)

产品简介:

乳酸脱氢酶 (Lactate dehydrogenase, LDH) 包括L和D两种类型, 在动物和植物中存在的是L型乳酸脱氢酶 (L-LDH)。L-LDH是糖酵解途径的末端酶, 在机体能量代谢中发挥重要作用。L-LDH的升高具有重要临床意义, 其病理性增高主要见于肝病 (急慢性肝炎活动期、肝硬化、脂肪肝、酒精性肝病、药物性肝损伤等)、急性心肌梗塞、骨骼肌病、肾病、中枢神经系统疾病、胸膜病及肿瘤性疾病。

L-LDH属于氢转移酶, 它催化NAD⁺氧化L-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, 后者在碱性溶液中显棕红色, 颜色深浅与丙酮酸浓度成正比, 故通过比色可求出酶活力。

本试剂盒的优点:

1, 实验操作简单、快速。

整个操作过程非常简单, 在1h内就可完成。

2, 可同一批次操作多个样本。

本试剂盒反应敏感度适中, 实验结果稳定。只要按照说明书操作, 可保实验结果相对稳定, 不会出现因为1~2min之时间差导致前后加样各组实验结果变化很大的情况。因此可多个样本一批次操作, 从而提升实验效率。

3, 试剂存取方便。

试剂盒所有试剂都在4℃保存, 不含有需要另外在-20℃冻存的组分。

试剂盒组分: (保存温度4℃)

名 称	规格 (48T)	规格 (96T)
微孔板	8×6 条	8×12 条
标准品	2mL×3 (粉剂)	2mL×6 (粉剂)
提取液	50mL	50mL×2
底物液	7.5mL	7.5mL×2
反应液	10mL	10mL×2
显色液	75mL	75mL×2
催化剂	1.5mL×3 (粉剂)	1.5mL×6 (粉剂)
产品说明书	一份	一份

需要自备的仪器和用品

1. 标本收集实验部分:

- (1). 组织样品: 实验室天平、冰、研钵/组织匀浆器、低温高速离心机、1.5mL EP管、可调式移液器和双蒸水。
- (2). 细菌或细胞样品: 冰、超声波细胞破碎仪、低温高速离心机、1.5mL EP管、可调式移液器和双蒸水。

2. 检测程序操作部分:

37℃恒温水浴锅、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板、1.5mL EP管、可调式移液器和双蒸水。

标本收集

- 组织标本:** 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, 取上清混匀后置冰上待测。
- 细菌或细胞标本:** 按照细胞数量 (10^4 个) : 提取液体积 (mL) 为 500 ~ 1000:1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL 提取液) 冲悬浮细胞, 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 8000g 4℃ 离心 10min, 取上清液混匀后置冰上待测。
- 血清等液体标本:** 直接测定。

检测程序

- 分光光度计/酶标仪预热 30min, 调节波长到 440nm。打开水浴锅, 调节温度至 37℃, 预热 30min。所有试剂平衡到室温。
- 溶液配制:
 - (1). 配制催化液: 在装有催化剂的棕色 EP 管中, 加入 1mL 双蒸水溶解并充分混匀即得。
 - (2). 配制标准液: 在标准品冻干粉剂棕色 EP 管中, 加入 2mL 双蒸水溶解并充分混匀, 即为 500U/L L-LDH 标准品使用溶液。
注意: 上述两溶液 4℃ 可保存 3 天。
- 在 1.5ml EP 管中加入下列试剂并如下操作:

试剂名称	空白管	标准管	测定管
提取液 (μL)	10		
标准液 (μL)		10	
样本液 (μL)			10
底物液 (μL)	100	100	100
催化液 (μL)	20	20	20
充分混匀, 37℃ 反应 15min			
反应液 (μL)	100	100	100
充分混匀, 37℃ 反应 15min			
显色液 (μL)	1000	1000	1000
充分混匀, 室温放置 15min			
置于酶标仪上, 于波长 440nm 处, 测定各孔吸光度值 A			

$\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$

*注意: 空白管只需测定一次。

结果判断与计算

- 使用 96 孔板测定的计算公式如下:

$$L\text{-LDH 浓度 (U/L)} = \Delta A_{\text{测定}} / \Delta A_{\text{标准}} * C_{\text{标准}} * N$$

$C_{\text{标准}}$: L-LDH 标准品使用溶液浓度, 为 500U/L;
 N : 样品测试前稀释倍数。
- 本试剂盒测定 L-LDH 含量的线性范围: 0 ~ 500U/L。

注意事项:

- 实验前请认真仔细阅读此说明书, 说明书以试剂盒内纸质版为准。
- 正式测定之前选择 2 ~ 3 个预期差异大的样本做预测定, 以熟悉实验流程。
- 检测时所有试剂都要恢复到室温, 试剂盒开封后剩余试剂放回袋中 1 个月内用完。
- 如果测定发现样本初始酶活力超过 500U/L, 建议用提取液稀释后再进行测定。
- 一般血清样本内源性 L-LDH 和酮酸很少, 血清对照孔吸光度值接近试剂空白孔时可以提取液代替血清作对照孔。但对高脂血、黄疸或溶血血清, 每份标本应作对照孔。
- 血清标本不采用草酸盐、EDTA 抗凝血。采血后应及时分离, 避免溶血。样本贮存 4℃ 酶活力可稳定三天。
- 本试剂盒仅用于科研, 不能用于临床诊断!

相关文献:

1: Low expression of dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing nonintegrin in non-Hodgkin lymphoma and a significant correlation with b2-microglobulin

Med Oncol (2014) 31:202 DOI 10.1007/s12032-014-0202-6.

2: APRIL promotes non-small cell lung cancer growth and metastasis by targeting ERK1/2 signaling

Oncotarget, 2017, Vol. 8, (No. 65), pp: 109289- 109300

3: knockdown of ALL4 inhibits the proliferation, migration, and invasion of human lung cancer cells in vivo and in vitro

Ann Transl Med 2020;8(24):1678 | [http://dx.doi.org/ 10.21037/atm-20-7939](http://dx.doi.org/10.21037/atm-20-7939)

4 : NF- κ B stabilizes cyclin E1 mRNA through phosphorylation of NF- κ B - ser382 by cDK2

Ding et al. Cell Death Discovery (2020) 6:3 [https://doi.org/ 10.1038/s41420-020-0236-9](https://doi.org/10.1038/s41420-020-0236-9).

注: 更多使用本产品的文献请参考威奥生物官网 (<https://www.biotechwell.com/>) 。