

## 乳酸脱氢酶同工酶 (LDH-1) 活性检测试剂盒 (快速)

### 检测意义及原理:

乳酸脱氢酶同工酶 (LDH-1) 是乳酸脱氢酶 (LDH) 的五种同工酶之一, 由四个H亚基 (HHHH) 组成, 主要分布于心肌、肾脏和红细胞等组织中. 临床意义: 升高提示疾病: 急性心肌梗死: LDH-1显著升高, 且  $LDH1/LDH2 > 114$ . 溶血性贫血: LDH-1和LDH-2同时升高, 若LDH-1未升高可排除溶血. 恶性肿瘤: 如畸胎瘤、睾丸细胞瘤等可能表现为单纯LDH-1升高14. 其他: 急性肾皮质坏死、血管内容血症等14. 总LDH升高但同工酶谱正常: 可能见于心脏病、肝病或骨骼肌病等.

本试剂盒采用紫外比色法在酶标板上操作, 标准品和待测样品中的LDH-1与显色液发生反应, 反应生成物在340nm处有特征性吸收峰, LDH-1含量与此OD值成正比, 可通过绘制标准曲线求出样品中LDH-1酶活力.

### 试剂盒特点:

- 1. 特异性强:** 本试剂盒基于最新科研成果研发, 具有对LDH-1的检测高度专一、不受其他因素影响的优点.
- 2. 简单快速:** 10min内即可完成.
- 3. 大通量操作:** 本试剂盒反应敏感度适中, 实验结果稳定, 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. 因此可一批次操作多个样本, 从而提升实验效率.

### 试剂盒组分: (保存: 2-8℃避光, 有效期: 6个月)

名称	规格 (48 T)	规格 (96 T)
紫外微孔板	8×6条	8×12条
标准品	1mL	1mL
提取液	50mL	100mL
底物液	15mL	30mL
催化剂 (-20℃避光保存)	1支	2支
产品说明书	1份	1份

本试剂盒适用于血清、血浆、脑脊液、尿液、组织匀浆、细菌、细胞培养上清及其它样本。

### 需要自备试剂和器材:

1. 紫外酶标仪、离心机、移液器、天平、制冰机及实验室常规仪器。
2. 多种规格单通道移液器或8通道移液器。
3. 不同规格的试管和离心管, 加样槽。
4. 漩涡混匀器。
5. 去离子水或蒸馏水。

### 标本收集:

- 1. 组织标本:** 按照动物组织质量 (g) : 提取液(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. 8000rpm 4℃离心10min, 取上清置于冰浴中待测。

2. **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) 加入提取液，冰浴超声波破碎细胞 (功率300w，超声2秒，间隔3秒，总时间3min)。然后8000rpm 4℃离心10min，取上清置于冰浴中待测。

3. **血清等液体标本：**直接测定。

**备注：**待测样本应尽早检测，2~8℃保存48小时；更长时间须冷冻 (-20℃或-80℃) 保存，避免反复冻融。

## 试剂准备：

### 1. 标准品的配制：

A, **LDH-1标准液配制：**在标准品的试管中加入1mL提取液，混匀即得500U/L LDH-1标准工作液。

B, **标准液浓度梯度配制：**如下图操作

组别	blank	S1	S2	S3	S4	S5	S6
LDH-1标准液 ( $\mu$ L)	0	1	2	4	8	16	32
提取液 ( $\mu$ L)	32	31	30	28	24	16	0
稀释后LDH-1活性 (U/L)	0	15.625	31.25	62.5	125	250	500

**注意：**1, 样品在什么溶液中，标准品也需用什么溶液稀释，这样可以减小误差。

2, 初次测定后知道样品的浓度范围后，可以对标准品在样品浓度范围附近密集测定。

2. **显色液的配制：**取一支催化剂，倒入15mL底物液溶解并充分混匀即得显色液。

**注意：**标准工作液和显色液需要现用现配，4℃避光保存3d。

## 检测程序：

1. **加显色液：**每个标准液及待测样品酶标板孔内加入显色液300 $\mu$ L。
2. **加待测样本及孵育：**将配制好的标准液及待测样品各取20 $\mu$ L加入到上述各对应板孔中，混匀，37℃反应5min。
3. **读数：**将酶标板放入酶标仪中，在340nm处读OD值。

## 结果判断与计算：

1. 所有OD值建议减除空白孔值后再进行计算，如空白孔OD低于0.1，也可以直接计算。
2. 以标准品浓度作横坐标，OD值作纵坐标，手工绘制或用软件绘制标准曲线，根据样品OD值计算出相应含量，再乘以稀释倍数即可。

## 注意事项

1. 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。
2. 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。
3. 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。
4. 本试剂盒检测需要紫外分光光度计/酶标仪，如果实验室分光光度计/酶标仪不具有紫外功能，建议购买本公司的另外一种可以用普通分光光度计/酶标仪检测的LDH-1活性检测试剂盒 (货号:ET0012)。
5. 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。
6. 一般血清样本内源性LDH-1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。但对高血脂血、黄疸或溶血血清，每份标本应作对照孔。



7. 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。
8. 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 SALL4 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>

4: NF90 stabilizes cyclin E1 mRNA through phosphorylation of NF90-Ser382 by CDK2

Ding et al. Cell Death Discovery (2020) 6:3 <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。