

D-乳酸脱氢酶（D-LDH）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHF6-C24	D-乳酸脱氢酶（D-LDH）	24T	常量法
AMHF6-C48	含量检测试剂盒	48T	

一、测定意义：

乳酸脱氢酶是一种糖酵解酶，主要作用是催化乳酸氧化为丙酮酸，该指标升高可能是疾病的反应。乳酸脱氢酶是诊断心肌梗死，肝脏疾病，血液系统疾病，恶性肿瘤的重要指标。

二、测定原理：

D-乳酸脱氢酶（D-LDH）催化 NAD^+ 氧化D-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。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量（24T）	试剂装量（48T）	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 20mL×1 瓶	液体 40mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	-20℃避光保存
试剂二的配制：临用前加入 1.3 mL 蒸馏水充分溶解备用，配好后可分装成小管-20℃保存，可保存 2 周，禁止反复冻融。			
试剂三	液体 25 mL×1 瓶	液体 40 mL×1 瓶	2~8℃避光保存
试剂四	液体 50 mL×1 瓶	液体 100mL×1 瓶	2~8℃保存
标准品	液体 1mL×1 瓶	液体 1mL×1 瓶	2~8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

- 1、组织：按照组织质量（g）：提取液（mL）为 1:10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。
- 2、细菌/细胞：按照细胞数量（ 10^4 个）：试剂一体积（mL）为 500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL提取液），冰浴超声波破碎

细胞（功率 200W，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 5min）；然后 10000g，4℃离心10min，取上清置于冰上待测。

3、血清（浆）等液体样本：直接测定。若有浑浊请离心后取上清待测。

测定步骤

- 1、分光光度计预热30min以上，调节波长至450nm，蒸馏水调零；
- 2、临用前将10mg/mL标准品用蒸馏水稀释成0.5、0.25、0.125、0.0625、0.03125、0.015625、0.0078125、0mg/mL的标准液备用；
- 3、操作表（离心管中加入以下试剂）

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
待测样本（μL）	50	50	-	-
不同浓度标准液（μL）	-	-	50	-
试剂一（μL）	250	250	250	250
试剂二（μL）	50	-	-	-
蒸馏水（μL）	-	50	50	100
充分混匀，37℃水浴 15min				
试剂三（μL）	250	250	250	250
充分混匀，37℃水浴 15min				
试剂四（μL）	750	750	750	750
充分混匀，室温静置 3min，450nm 下测定吸光度，记为 $A_{\text{测定}}$ ， $A_{\text{对照}}$ ， $A_{\text{标准}}$ ， $A_{\text{空白}}$ 。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。 每个测定管需要设一个对照管。				

五、D-乳酸脱氢酶（D-LDH）活性计算：

- 1、标准曲线的制备：以吸光度值 $\Delta A_{\text{标准}}$ （x， $\Delta A_{\text{标准}}$ ）为横坐标，标准品浓度（y，mg/mL）为纵坐标，绘制标准曲线。将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入标准曲线计算出样本浓度y（mg/mL）。
 - 2、血清样本D-LDH计算
- 单位定义：**每mL血清（浆）每分钟催化产生1mg丙酮酸定义为一个酶活性单位。

计算公式： D-LDH（U/mL）= $y \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div T = y \times 0.067$

3、组织、细胞样本D-LDH计算

(1)按样本蛋白浓度计算

单位定义：每mg组织蛋白每分钟催化产生1mg丙酮酸定义为一个酶活性单位。

计算公式： $D-LDH (U/mg \text{ prot}) = y \times V_{\text{样}} \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = y \times 0.067 \div Cpr$

(2)按样本鲜重计算

单位定义：每g组织每分钟催化产生1mg丙酮酸定义为一个酶活性单位。

计算公式： $D-LDH (U/g) = y \times V_{\text{样}} \div (W \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T = y \times 0.067 \div W$

(3) 按照细菌或细胞数量计算

单位定义：每1万个细菌或细胞每分钟催化产生1mg丙酮酸定义为一个酶活性单位。

计算公式： $D-LDH (U/10^4 \text{ cell}) = y \times V_{\text{样}} \div (N \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T = y \times 0.067 \div N$

$V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.05mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1 mL； T ：反应时间，15min； Cpr ：样本蛋白质浓度，mg/mL； N ：细胞或细菌总数，以万计； W ：样本重量，g。

六、注意事项：

- 1、 ΔA 大于1.3或者小于0.01时，建议将样本用蒸馏水稀释或者增大样本量进行实验，注意同步修改计算公式；
- 2、为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取2-3个预期差异较大的样本进行预测定。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日