

## 乳酸脱氢酶(LDH)测定试剂盒

比色法 50 管/24 样

### 一、试剂组成及配制：

	试剂组成	50 管/24 样	100 管/48 样	保存条件
试剂一	基质缓冲液	15ml×1 瓶	30ml×1 瓶	2~8℃ 保存
试剂二	辅酶 I	粉剂×2 支	粉剂×3 支	-20℃ 保存
<b>辅酶 I 应用液的配制：</b> 每支粉剂加 1.3ml 双蒸水溶解，溶解后冷冻保存 2 周，如需多次使用建议分装冷冻（防止反复冻融）				
试剂三	2, 4-二硝基苯肼	15ml×1 瓶	30ml×1 瓶	2~8℃ 保存
试剂四	4mol/L NaOH 溶液	15ml×1 瓶	30ml×1 瓶	2~8℃ 保存
<b>0.4mol/L NaOH 溶液配制：</b> 将 4mol/L NaOH 溶液用双蒸水 10 倍稀释，用多少配多少，现用现配				
试剂五	2mmol/L 丙酮酸钠标准液	1ml×1 支	1ml×1 支	1ml×1 支
<b>[注]：</b> 保存条件及有效期:2~8℃密封保存，有效期 3 个月。				

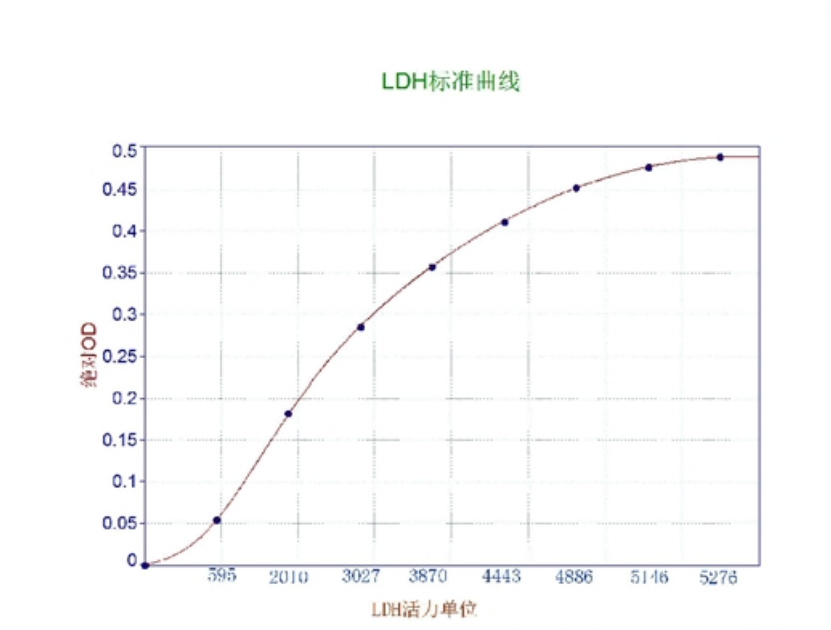
### 二、操作表：

	空白管	标准管	测定管	对照管
双蒸水 (ml)	0.05+a	0.05		0.05
2mmol/L 标准液 (ml)		a		
待测样本 (ml)			a	a
基质缓冲液 (ml)	0.25	0.25	0.25	0.25
辅酶 I 应用液 (ml)			0.05	
混匀，37℃水浴 15 分				
2, 4-二硝基苯肼 (ml)	0.25	0.25	0.25	0.25
混匀，37℃水浴 15 分钟				
0.4mol/L NaOH 溶液 (ml)	2.5	2.5	2.5	2.5



混匀,37℃水浴 15 分钟									
2,4-二硝基苯胍液 (ml)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
混匀,37℃水浴 15 分钟									
0.4mol/L 氢氧化钠 (ml)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
混匀, 静置 3 分钟, 在 440nm 处, 1cm 光径, 双蒸水调零, 测各管吸光度。									
相当于 LDH 单位	0	595	2010	3027	3870	4443	4886	5146	5276
本所吸光度参考值	0.071	0.125	0.252	0.355	0.428	0.481	0.522	0.546	0.558
本所绝对吸光度参考值	0	0.055	0.182	0.285	0.358	0.411	0.452	0.476	0.488

以所测得的吸光度为纵坐标, 以相应的单位为横坐标, 绘制标准曲线。



### 附录II: 大鼠血浆 LDH 最佳取样量摸索

- 1、试剂及配制: 由南京建成生物工程研究所第一分所提供并按说明书配制。
- 2、样本来源: 以正常组大鼠眼眶取全血, 肝素抗凝后取血浆测定。

### 3、操作表:

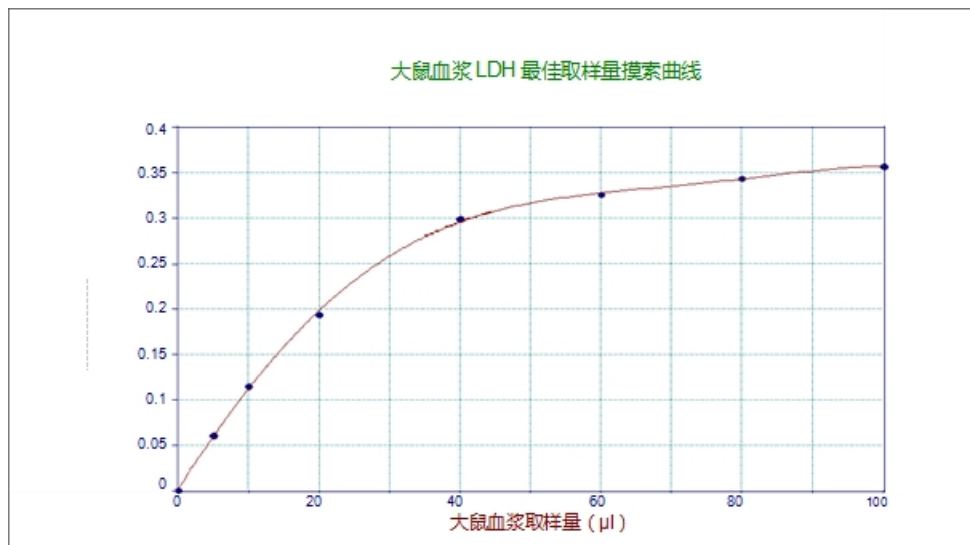
	标准管	空白管	测定管	对照管
双蒸水 (ml)	0.13	0.15		0.05

标准品 (ml)	0.02			
不同浓度的样本 (ml)			0.10	0.10
基质缓冲液 (ml)	0.25	0.25	0.25	0.25
辅酶 I 溶液 (ml)			0.05	
混匀,37℃水浴 15 分钟				
2,4-二硝基苯肼溶液(ml)	0.25	0.25	0.25	0.25
混匀,37℃水浴 15 分钟				
0.4mol/L 氢氧化钠溶液 (ml)	2.5	2.5	2.5	2.5
混匀, 室温放置 3 分钟, 波长 440nm, 光径 1cm, 双蒸水调零, 测定各管吸光度值。				

4、测定结果:

管号	0	1	2	3	4	5	6	7
血浆 (ml)	0	0.005	0.010	0.020	0.040	0.060	0.080	0.100
生理盐水(ml)	0.1	0.095	0.090	0.080	0.060	0.040	0.020	0
测定管 OD	0.068	0.157	0.226	0.346	0.526	0.632	0.736	0.804
对照管 OD	0.068	0.096	0.111	0.152	0.227	0.306	0.736	0.447
绝对 OD	0	0.061	0.115	0.194	0.299	0.326	0.344	0.357

5、大鼠血浆检测 LDH 时最佳取样量的摸索曲线 (水浴温度为 37℃):



参考取样量：大鼠血浆为 10~30 μl，最佳取样量为 20 μl。在其范围内酶曲线通过回归曲线的处理，相对成正比关系。若取样量过大或过少，则在实验结束后，在进行统计学处理时会出现无显著差异。

#### 附录III：小鼠脑匀浆 LDH 最佳取样量摸索

- 试剂及配制：**由南京建成生物工程研究所第一分所提供并按说明书配制。
- 样本来源：**正常大鼠脑组织
- 前处理：**正常组小鼠脑组织用生理盐水制成 10%的匀浆（详见实验方法学），2500 转/分离心 10 分钟，取上清 0.1ml 用生理盐水稀释至 5ml，即稀释成 0.2%的匀浆液待测。同时测得 2%的匀浆蛋白为 0.850mgprot/ml。（用考马斯亮兰法测定蛋白，本所有售）。

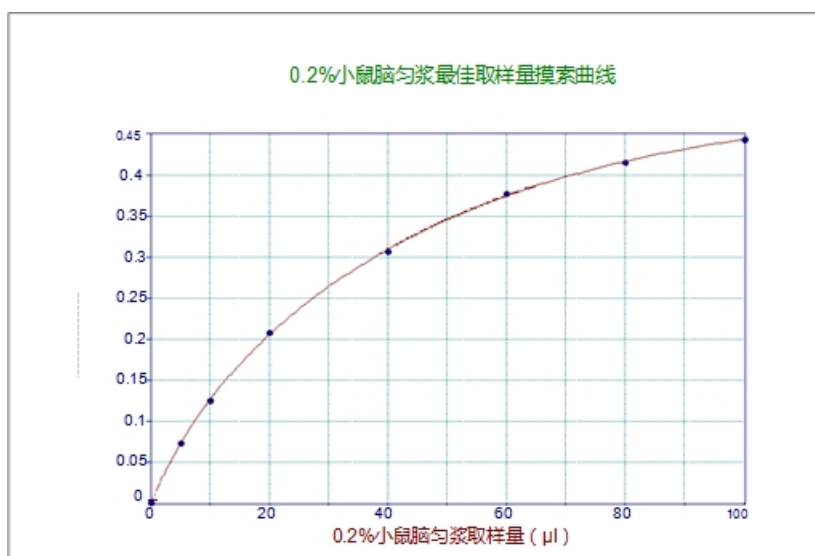
#### 4、操作表：

	标准管	空白管	测定管	对照管
双蒸水 (ml)	0.13	0.15		0.05
标准品 (ml)	0.02			
不同浓度的样本(ml)			0.10	0.10
基质缓冲液 (ml)	0.25	0.25	0.25	0.25
辅酶 I 溶液 (ml)				
混匀,37℃水浴 15 分钟				
2,4-二硝基苯肼溶液 (ml)	0.25	0.25	0.25	0.25
混匀,37℃水浴 15 分钟				
0.4mol/L 氢氧化钠溶液 (ml)	2.5	2.5	2.5	2.5
混匀，室温放置 3 分钟，波长 440nm，光径 1cm，双蒸水调零，测定各管吸光度值。				

#### 5、测定结果：

管号	0	1	2	3	4	5	6	7
0.2%的匀浆液 (ml)	0	0.005	0.010	0.020	0.040	0.060	0.080	0.100
生理盐水(ml)	0.1	0.095	0.090	0.080	0.060	0.040	0.020	0
测定 OD	0.068	0.159	0.222	0.308	0.41	0.484	0.524	0.56
对照 OD	0.068	0.086	0.097	0.1	0.103	0.106	0.108	0.116
绝对 OD	0	0.073	0.125	0.208	0.307	0.378	0.416	0.444

6、绘图如下:



**参考取样量:** 0.2%小鼠脑匀浆为 20~50  $\mu$ l, 最佳取样量为 35~40  $\mu$ l。在其范围内酶曲线通过回归曲线的处理, 相对成正比关系。若取样量过大或过少, 则在实验结束后, 在进行统计学处理时会出现无显著差异。