



乳酸脱氢酶同工酶(LDH-1)测定试剂盒说明书(精简版)

(货号: A020-3-1 化学抑制法)

免责声明: 测试前请仔细阅读说明书,预试后再进行批量实验,否则由此导致的后果用户自行承担!

【应用范围】

本试剂盒用于血清或血浆中乳酸脱氢酶同工酶(Lactate Dehydrogenase Isozyme 1)的体外定量测定。主要用于诊断急性心肌梗塞(AMI),病毒性心肌炎、风湿性心肌炎和克山病等。

【检验原理】

$L-LD + NAD^+ \xrightarrow{LDH1} \text{丙酮酸} + NADH + H^+$
反应体系中加入有硫氰酸胍抑制剂,能抑制 LDH₂、LDH₃、LDH₄ 和 LDH₅ 的活性,测定结果为 LDH₁ 活力。在波长 340nm 处测定 NADH 生成速率,计算出 LDH₁ 活力。

【试剂组成】

试剂编号	规格装量
试剂 1	60mL ×1
试剂 2	20mL ×1

【主要组成成分】

试剂	成分	终浓度
试剂 1	三羟甲基氨基甲烷—盐酸缓冲液	100mmol/L
	硫氰酸胍	3.0mmol/L
	L-乳酸锂	120mmol/L
试剂 2	氧化型辅酶 I	≥5.0mmol/L
	Proclin300	0.3mL/L

【储存条件及有效期】

本试剂盒应避光保存,于 2~8℃可稳定一年。试剂打开后,2~8℃可保存 1 个月。

【样本要求】

血清或血浆,采血后应及时分离,避免溶血,样本贮存 2~8℃酶活力可稳定 3 天。

【所需仪器耗材及试剂】

含 340nm 波长的分光光度计及 1cm 光径比色皿(或酶标仪及 96 孔板)或自动生化分析仪、37℃水浴锅或恒温箱、台式低速离心机、各种规格移液器、双蒸水、生理盐水(0.9%)或 PBS(0.1M)、涡旋混匀器、试管或离心管。

【参考值(参考范围)】

参考值:正常人 15~65U/L(此数据仅供参考,建议各实验室建立自己的参考值范围)

【检测方法】

○ 生化分析仪测定方法

1、试剂配制:本试剂为液体,可直接使用。

2、测定条件

主波长	340nm	辅助波长	405nm
反应温度	37℃	标本	10μL
反应方法	速率法	试剂 1	200μL
反应方向	向上	试剂 2	50μL
比色杯光径	1.0cm	R1+S 孵育时间	1min
R1+S+R2 孵育时间	60sec	R1+S+R2 反应时间	1-2min

3、自动生化分析仪使用操作方法

	空白	测定
双蒸水	10μL	
样品		10μL
试剂 1	200μL	200μL
混匀,37℃孵育 1min 后,加入 R2;		
试剂 2	50μL	50μL
混匀,37℃孵育 60sec,在测定波长下蒸馏水调零,连续监测 1-2min 各管吸光度变化,计算各管 ΔA/min		

自动生化分析仪自身自带的程序参数输入法,上述的

基本参数需结合此全自动生化分析仪自有的程序参数输入法,进行上机参数输入后试剂才能配套仪器自动测定。以上参数可按仪器不同要求作适当改变。

4、计算结果

用计算因子进行计算:

$$LDH1 \text{ 活力 (U/L)} = (\Delta A_{\text{测定}}/\text{min} - \Delta A_{\text{空白}}/\text{min}) \times F (4180)$$

$$F = \frac{\text{反应总体积 (mL)} \times 1000}{\text{样品体积 (mL)} \times 6.22 \times \text{比色光径 (cm)}}$$

1000: U/mL 到 U/L 的转换系数;

6.22: NADH 在 340nm 处的毫摩尔消光系数。

○ 分光光度计测定方法

1、操作步骤

	空白	测定
双蒸水	40μL	
样品		40μL
试剂 1	800μL	800μL
混匀,37℃孵育 1min,加入 R2;		
试剂 2	200μL	200μL
混匀,37℃孵育 60sec,340nm 波长下蒸馏水调零,连续监测 1-2min 各管吸光度变化,计算各管 ΔA/min		

2、计算结果

用计算因子进行计算:

$$LDH1 \text{ 活力 (U/L)} = (\Delta A_{\text{测定}}/\text{min} - \Delta A_{\text{空白}}/\text{min}) \times F (4180)$$

$$F = \frac{\text{反应总体积 (mL)} \times 1000}{\text{样品体积 (mL)} \times 6.22 \times \text{比色光径 (cm)}}$$

1000: U/mL 到 U/L 转换系数;

6.22: NADH 在 340nm 处毫摩尔消光系数。

【检验方法的局限性】

- 1、溶血可导致的误差出现。
- 2、血清乳酸脱氢酶同工酶 1(LDH1)测定只是临床医师对患者进行诊断的指标之一,临床医师还需根据患者体征、病史以及其它的诊断项目、诊断手段进行综合判断。

【产品性能指标】

试剂空白吸光度: $A_{340nm}(10mm) \leq 0.7(1cm \text{ 光径})$;

试剂空白测定值: $\Delta A/\text{min} \leq 0.01(1cm \text{ 光径})$ 。

线性范围: 0~600U/L(判断依据: $r^2 \geq 0.995$);

准确度: 测定值在指控品规定偏差范围。

精密度: 批内 CV<5.0%; 批间相对极差<10.0%;

【注意事项】

- 1、如仪器内无本试剂盒所要求波长的滤光片,选择波长接近的滤片,波长不建议误差超过 20nm。
- 2、仅供科研使用;勿溅到皮肤、眼睛;勿食须就医。不同批次试剂不推荐混用。