

全血乳酸（LD）测定试剂盒说明书（简化版）

（货号：A019-1-1 测全血 比色法）

一、测定原理：

以 NAD^+ 为氢受体，LDH 催化乳酸(Lactic Acid)脱氢产生丙酮酸，使 NAD^+ 转化成 NADH 。其中 PMS 递氢使 NBT 还原为紫色呈色物，呈色物的吸光度在 530nm 时与乳酸含量成线性关系。

二、试剂组成及配制（50 管/48 样）：

蛋白沉淀剂：溶液 50ml×1 瓶，室温保存 6 个月，如有结晶，则取上清进行实验。

试剂一：酶稀释液 60ml×1 瓶，4℃~8℃冰箱保存 6 个月。

试剂二：酶贮备液 0.6 ml×1 支，4℃~8℃冰箱保存 6 个月；用时用一次性吸头进行取样。

酶工作液的配制：临用前将试剂二（酶贮备液）和试剂一（酶稀释液）按照 1：100 的体积比进行混合，现用现配，4℃保存 24 小时内有效；

试剂三：显色溶液 6 ml×2 瓶，4℃~8℃避光冰箱保存 6 个月。

试剂四：粉剂×2 支，短期内使用可放 4℃~8℃冰箱，长期（6 个月）存放请置-20℃以下。

显色剂的配制：使用前取试剂四粉剂 1 支倒入 1 瓶试剂三液体中，待粉剂全部溶解后，用微量移液器取少许液体打入小离心管中，反复颠倒离心管，再用微量移液器将离心管中的液体转移到瓶中，如此反复 2~3 次，使二者充分混合，配成显色剂，4℃~8℃冰箱避光保存。

试剂五：终止液，60 ml×2 瓶，4℃~8℃冰箱保存 6 个月。

试剂六：3mmol/L 标准液，2 ml×1 支，4℃~8℃冰箱保存 6 个月。

三、操作步骤：

1、前处理：

上清液制备：取待测样本 0.1ml,加入蛋白沉淀剂 0.6ml 混匀，3500~4000 转/分，离心 10 分钟，取上清液进行测定。

[注]：1、全血及时用蛋白沉淀剂制备成乳酸上清液。

2、制成的乳酸上清冰箱 4℃或者 0℃以下保存，15~30 天稳定不变。

3、如果您的血样很少，您可以取 0.05ml 全血加 0.3ml 蛋白沉淀剂。

2、操作表：

	空白管	标准管	测定管
双蒸水 (ml)	0.02		
3mmol/L 标准液 (ml)		0.02	
上清液 (ml)			0.02
酶工作液 (ml)	1	1	1
显色剂 (ml)	0.2	0.2	0.2

混匀，37℃水浴准确反应 10 分钟

终止液 (ml)	2	2	2
----------	---	---	---

混匀，530 nm，1cm 光径，双蒸水调零，测定各管吸光度值。

四、注意点：

- 1、应取空腹或静止状态下的静脉血，并避免血液淤滞，如用止血带，应在针头刺入静脉后马上放开，然后等 2 分钟后再抽血。
- 2、血液要新鲜，最好是当天完成，如果当天完不成，可将样本进行样本前处理后，将上清液 4℃或-20℃保存可稳定 15~30 天。
- 3、蛋白沉淀剂如有结晶，则取上清进行实验。
- 4、在批量实验前需要进行预实验，以确定测定绝对 OD（测定 OD 值-空白 OD 值）在 0.05~0.35 之间。如果测定绝对 OD 小于 0.05，则需要加大样本浓度重新测定；如果测定绝对 OD 大于 0.35，则需要将样本稀释后重新测定。

南京建成生物工程研究所

地 址： 南京市中央路 258-27 号 电 话： (025) 83360321
新立基大厦 11 层 1106 室 83360969 83113890
邮 编： 210009 83112287(财务) 83360272(技术电话)
联 系 人： 季建平 传 真： (025) 83227943 83609960
投诉电话： (025) 57713719/13813881385 短 信： 13815858329
建成主页： www.njjcbio.com (建成生物) E-maiL: njjcbio@vip.163.com

附录 I：乳酸标准曲线的制备

1、前处理：

将 6mmol/L 的乳酸标准用双蒸水稀释成不同浓度：1mmol/L、2mmol/L、3mmol/L、4mmol/L、5mmol/L、6mmol/L，进行标准曲线的制备。

2、操作表：

	空白管	标准管
双蒸水 (ml)	0.02	
不同浓度的标准液 (ml)		0.02
酶工作液 (ml)	1	1
显色剂 (ml)	0.2	0.2
混匀，37℃水浴准确反应 10 分钟		
终止液 (ml)	2	2

混匀，530 nm，1 cm 光径，双蒸水调零，测各管吸光度值。

3、测定结果：

乳酸标准浓度 (mmol/L)	测定 OD 值	绝对 OD 值
0	0.076	0
1	0.174	0.098
2	0.281	0.205
3	0.384	0.308
4	0.478	0.402
5	0.558	0.482
6	0.633	0.557

4、绘图如下：

