

乳酸脱氢酶（LDH）细胞增殖及毒性检测试剂盒

货号：M1030

规格：100T/500T

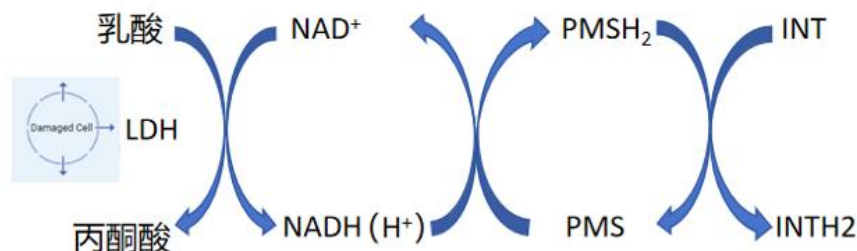
保存：低温运输，有效期1年。

产品内容：

产品组分		100T	500T	储存条件
Lysis Buffer		2mL	10mL	2-8°C保存
LDH matrix Solution	Solution I	2mL	10mL	2-8°C保存
	Solution II	2mL	10mL	-20°C避光 保存
	Solution III	2mL	10mL	
	Solution IV	5mL	25mL	
	Solution V	6mL	30mL	2-8°C保存
Stop Solution		3mL	15mL	2-8°C保存

产品说明：

乳酸脱氢酶（LDH）存在于细胞内，正常情况下，不能透过细胞膜。当细胞受到损伤时，由于细胞膜通透性改变，LDH可从细胞内释放至培养液中。释放出来的LDH在催化乳酸的过程中，使氧化型辅酶I（ NAD^+ ）变成还原型辅酶（ $\text{NADH}(\text{H}^+)$ ），后者再通过递氢体一吩嗪二甲酯硫酸盐（PMS）还原碘硝基氯化氮唑蓝（INT）形成有色的甲基化合物，在490nm波长处有一吸收峰，因此可通过比色来定量乳酸脱氢酶的活性，也可利用读取的吸光度值，检测细胞坏死情况。



使用方法：

1. LDH 底物液配置

使用前，将各个组分置于室温融化，按照比例 Solution I : Solution II : Solution III : Solution IV : Solution V=2:2:2:5:6 混合即得 LDH 底物液。最好现配现用。

2. 操作步骤

1) LDH 释放检测

a. 收集对数期细胞，根据细胞的大小和生长速度调整细胞悬液浓度，设置细胞梯度，分于 96 孔板，每孔 100 μ L，置 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱培养使细胞贴壁，培养 6-24 小时。

b. 吸去培养液，用 PBS 液洗涤一次。换 200 μ L 新鲜培养液(推荐使用含 1%血清的低血清培养液或适当的无血清培养液)，每孔加 20 μ L 试剂盒提供的 Lysis Buffer，反复吹打数次混匀。

c. 继续在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 细胞培养箱中孵育 30min。

d. 将细胞培养板用多孔板离心机 1500 rpm 离心 5min(没有多孔板离心机，可吸入离心管离心)。分别取各孔的上清液 120 μ L，加入到一新的 96 孔板相应孔中，然后每孔中加入 100 μ L LDH 底物液，混匀，室温避光静止 10-30 min，也可用铝箔包裹后置于水平摇床或侧摆摇床上缓慢摇动 10-30min。

e. 每孔加 30 μ L 终止液，测 490nm 处吸光度值。

(以吸光度为 Y 轴，细胞浓度为 X 轴绘图。)

2) 细胞毒性检测

a. 收集对数期细胞，根据细胞的大小和生长速度调整细胞悬液浓度，分于 96 孔板，每孔 100 μ L，置 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱培养使细胞贴壁，培养 6-24 小时。

b. 加入不同药物进行处理，并设置适当对照。药物刺激完毕后，尽量吸除上清，换 200 μ L 新鲜培养液(推荐使用含 1%血清的低血清培养液或适当的无血清培养液)，每孔加 20 μ L 试剂盒提供的 Lysis Buffer，反复吹打数次混匀。

c. 继续在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 细胞培养箱中孵育 30min。

d. 将细胞培养板用多孔板离心机 1500rpm 离心 5min(没有多孔板离心机，可吸入离心管离心)。分别取各孔的上清液 120 μ L，加入到一新的 96 孔板相应孔中，然后每孔中加入 100 μ L LDH 底物液，混匀，避光室温静止 10-30 min，也可用铝箔包裹后置于水平摇床或侧摆摇床上缓慢摇动 10-30 min。

e. 每孔加 30 μ L 终止液，测 490nm 处吸光度值。

(可绘制细胞毒性曲线：纵坐标为实际吸光度，横坐标为药物浓度)

注意事项：

1. 每种细胞的 LDH 量不同，建议正式实验前选取几个样本做预实验，以优化实验条件，确定最佳的细胞用量，以取得最佳实验效果。

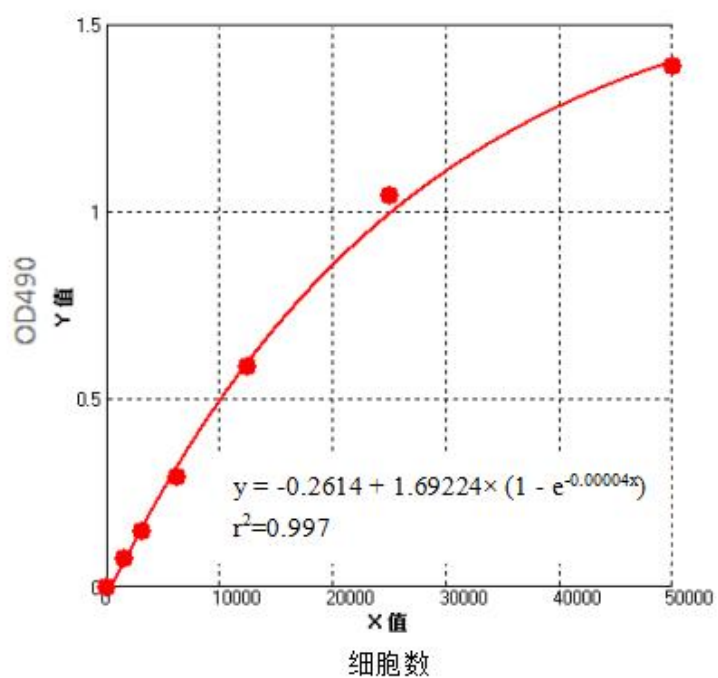
2. 由于使用 96 孔板进行检测，如果细胞培养时间较长，一定要注意蒸发的的问题。可以采取弃用周围一圈的办法，改加 PBS、水或培养液；也可以把 96 孔板置于靠近培养箱内水源的地方，以缓解蒸发。

3. 如果检测细胞培养液中的乳酸脱氢酶，由于血清含有乳酸脱氢酶，建议血清的使用浓度不要超过 1%，并最好使用热灭活血清。

4. 接种时注意细胞悬液一定要混匀，以避免细胞沉淀下来，导致每孔中的细胞数量不等，可以每接种几个孔就混匀一下。

5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

附图：



相关产品：

M1020 MTT 细胞增值及细胞毒性检测试剂盒

T1300 胰蛋白酶 EDTA 消化液(0.25%) 不含酚红

12100 DMEM(H)

S9000 特级胎牛血清

P1400 青链霉素混合液(100×)

90023 RPMI Medium 1640(不含酚红)