



LDH细胞毒性检测试剂盒（INT法）说明书

货号：WGD-X-3100139

产品介绍

LDH（Lactate Dehydrogenase，乳酸脱氢酶）细胞毒性检测试剂盒（INT 法）是一种基于比色法原理的生化检测工具，主要通过定量测定样本 LDH 活性来评估细胞毒性水平。LDH 是一种广泛存在于生物体内的氧化还原酶，参与糖酵解过程，催化乳酸与丙酮酸之间的转化，其活性水平常作为细胞膜完整性及组织损伤的标志物。

产品目录

产品名称	规格
LDH 细胞毒性检测试剂盒（INT 法）	100 rxns
	500 rxns

产品组成

组分	100 rxns	500 rxns
LDH 释放试剂	1 mL	5 mL
INT 检测缓冲液	9 mL	45 mL
酶溶液	1 mL	5 mL

产品用途

本试剂盒适用于以 LDH 释放为指标的细胞毒性检测，也适用于常规的乳酸脱氢酶活性检测与细胞增殖检测。

产品特点

- 1. 操作简便性与高效性：采用一步法流程，无需复杂洗涤步骤，可在 96 孔板中完成测定。
- 2. 高灵敏度与准确性：采用 INT 显色系统，颜色变化与 LDH 浓度或细胞裂解数量呈正相关，结果稳定可靠。
- 3. 广泛适用性：适用于几乎所有哺乳动物细胞类型，包括贴壁细胞、悬浮细胞及 3D 培养模型。

注意事项

- 1. 建议样品准备好后尽量当天完成测定。
- 2. 血清含有乳酸脱氢酶，样本制备时建议使用减血清或无血清培养基，并设置对照以消除背景信号。
- 3. 如果希望进行乳酸脱氢酶活性的绝对定量，用户需自备乳酸脱氢酶标准品。
- 4. 细胞过度生长、密度过高、离心速度过大、培养箱内外温差过大，都会造成细胞释放乳酸脱氢酶增加。
- 5. 本产品仅限于专业人员的科学研究，不得用于临床诊断或治疗。
- 6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套及口罩操作。

操作步骤

1. 样品制备

- a. 在 96 孔板中接种适量待测细胞，建议检测时细胞密度小于 90%。
- b. 建议按照以下分组进行实验：培养基背景组，阴性对照组、阴性对照最大释放组、实验组。建议使用减血清或无血清培养基，否则可能导致检测本底偏高。
- c. 检测前，阴性对照最大释放组中需加入 LDH 释放试剂（每 100 μ L 样品加入 10 μ L LDH 释放试剂），然后将所有待测样品进行 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min。
- d. 孵育结束后，500 $\times$ g 离心 5 min，每孔取 100 μ L 上清液加入酶标板中等待检测。



2. 检测工作液配制：

按照每 90 μL 检测缓冲液加入 10 μL 酶溶液的比例配制检测工作液，每个样品需要使用 100 μL 检测工作液，根据待测定的样品数适量配制。检测工作液现配现用，操作过程需要避光。

3. 样品测定：

- a. 在每个样品孔中加入 100 μL 检测工作液，并轻柔混匀，避免引入气泡。
- b. 室温避光孵育 10 ~ 20 min 后。使用酶标仪检测 490 nm 吸光度。

■ 储存及运输条件

-25 ~ -15 $^{\circ}\text{C}$ ，有效期 1 年。干冰运输。

■ 常见问题及解决方法

常见问题	可能原因	解决方法
检测结果异常 (OD 值过高或过低)	接种细胞状态和数量不合适	通过预实验优化细胞接种密度。
	细胞过度生长或处理过度导致自发释放增加	控制细胞汇合度在 90%以下，并优化处理时间。
本底偏高	动物血清中的 LDH 会使本底值偏高	更换减血清或无血清培养基、使用热灭活血清（56 $^{\circ}\text{C}$ 处理 30 min），或设置培养基背景组进行本底扣除。
显色不稳定或沉淀形成	试剂未充分混匀	使用板式振荡器混匀。
	培养板边缘孔液体蒸发	培养时边缘孔加 PBS 缓冲液防蒸发。
试剂保存与使用问题	冻融导致酶失活	接收试剂后立即分装冻存于-20 $^{\circ}\text{C}$ 。
	INT 溶液见光降解（需铝箔包裹）	配置试剂后需铝箔包裹。
	反应工作液配制错误（需严格按体积比混合）	使用前平衡至室温，工作液现配现用，严格按体积比混合。若试剂出现浑浊或变色应弃用。
数据重复性差	细胞接种不均匀	建议使用多通道移液器。
	培养板边缘效应	弃用外围孔。