

乳酸脱氢酶（LDH）活性微量法测定的原理是通过检测LDH催化丙酮酸还原为乳酸的过程中NADH的生成量来间接测定LDH的活性。

具体过程如下：

反应原理：在LDH的作用下，NAD⁺被还原生成NADH。NADH与WST-8相互作用产生颜色，从而进行比色测定（ $\lambda_{\max}=450\text{ nm}$ ）。

反应条件：LDH将NAD还原为NADH，NADH与WST-8相互作用产生颜色。这个反应在冰上避光进行，各组分（如Assay Buffer、Lactate、NAD、WST-8、Enhancer）需在实验前从冰箱中取出并平衡至室温，整个过程需避光操作。

吸光度测量：在450 nm波长下测量吸光度，吸光度与LDH活性成正比，可以通过比色法测定LDH的活性。

实验步骤和所需设备：

实验步骤：准备工作液（1×Assay Buffer、NAD、WST-8、Enhancer和Lactate混合均匀），将工作液加入96孔板或微量玻璃比色皿中，加入待测样品，37℃恒温孵育一定时间后测量吸光度。

所需设备：酶标仪或可见分光光度计（能测450 nm处的吸光度）、恒温箱、制冰机、低温离心机、96孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头、去离子水、匀浆器（如果是组织样本）。

实验注意事项：

试剂保存：各组分（如Assay Buffer、Lactate、NAD、WST-8、Enhancer）需在冰上避光保存，避免反复冻融。

操作注意事项：整个实验过程需在冰上避光进行，避免光照影响结果。