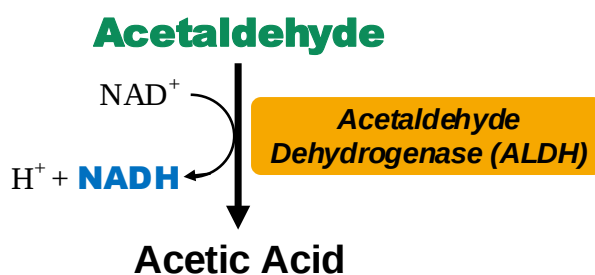




乙醛脱氢酶（ALDH）活性检测试剂盒

Acetaldehyde Dehydrogenase (ALDH) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



乙醛脱氢酶 (ALDH) 活性检测试剂盒

Acetaldehyde Dehydrogenase (ALDH) Activity Assay Kit

一、产品描述

乙醛脱氢酶 (ALDH) 是线粒体内一种重要的醛类氧化酶, 广泛存在于各种动物、植物和微生物中, 主要参与细胞内醛类物质的氧化代谢过程, 作为乙醇代谢过程中的关键酶, 能够将对生物体有害的醇类物质转化, 具有抑制细胞凋亡和解毒的功能, 并且可作为体内重要的氧化应激分子和癌细胞标记物, 在分子生物学及相关疾病的检测方面发挥着重要作用。

乙醛脱氢酶能够催化乙醛和 NAD^+ 转化为乙酸和 NADH, NADH 在 340 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可表征乙醛脱氢酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 120 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 8 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	-20°C 避光保存	使用前加入 3 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后 -20°C 保存, 避免反复冻融)
试剂三	液体 1 mL×1 支	4°C 避光保存	-
试剂四	液体 1 mL×1 支	4°C 避光保存	-
试剂五	液体 1.5 mL×1 支	4°C 避光保存	-

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿 (光径 10 mm) /96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

①组织: 按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: (5-10) 的比例 (建议称取 0.1 g 组织, 加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴匀浆, 4°C 12000 g 离心 15 min, 取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞: 离心收集细菌或细胞至离心管内, 按照细菌或细胞数量 (10^4 个): 提取液体积 (mL) 为 (500-1000): 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴超声破碎 (功率 300 W, 超声 3 s, 间隔 7 s, 总时间 3 min), 4°C 12000 g 离心 15 min, 取上清置于冰上待测。

③血清 (浆)、培养液等液体样本: 直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

- ①紫外分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。
- ②试验前将试剂一 37℃（哺乳动物）或 25℃（其他物种）预热 15 min。
- ③在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	40	-
蒸馏水	60	100
试剂一	60	60
试剂二	20	20
试剂三	4	4
试剂四	6	6
试剂五	10	10

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 30 s 时（总时间）340 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②37℃（哺乳动物）或 25℃（其他物种）准确反应 60 s，测定 90 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算 ΔA 测定=A2 测定-A1 测定， ΔA 空白=A2 空白-A1 空白， $\Delta A = \Delta A$ 测定- ΔA 空白。注：空白组只需测定 1-2 次。

3.乙醛脱氢酶（ALDH）活性计算

3.1 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ALDH (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1607.72 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织样本每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ALDH (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1607.72 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ALDH (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1607.72 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ALDH (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times T} = 1607.72 \times \Delta A$$

3.1 使用微量石英比色皿测定的计算公式

将上述公式中 96 孔 UV 板光径 $d_1=0.5$ cm 改为微量石英比色皿光径 $d_2=1.0$ cm 进行计算即可。

注释： $V_{\text{样}}$ ：反应体系中加入粗酶液的体积，40 $\mu\text{L}=0.04$ mL； $V_{\text{样总}}$ ：粗酶液总体积，1 mL；

$V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积，200 $\mu\text{L}=2 \times 10^{-4}$ L； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm； d_1 ：96 孔

UV 板光径，0.5 cm； d_2 ：微量石英比色皿光径，1 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，

g；细菌或细胞数量：以万计；T：反应时间：1 min； 10^9 ：单位换算系数，1 mol= 10^9 nmol。

四、注意事项

①准确在 30 s 和 90 s 处完成吸光值测定，以保证实验结果的准确性和重复性；若使用 96 孔 UV 板进行检测，建议使用多道移液器，且分批进行检测，以确保组间反应时间一致；

②若 ΔA 大于 1 时，建议将粗酶液适当稀释后再进行测定；若 ΔA 小于 0.01 时，可以延长反应时间后再进行测定，计算时相应修改；

③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

