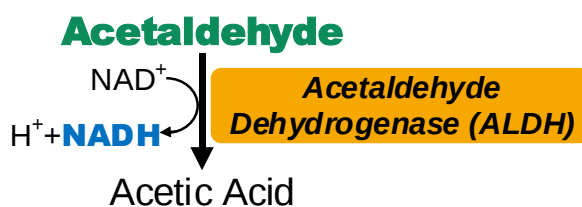




乙醛脱氢酶（ALDH）活性检测试剂盒

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 可保存 1 个月，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：酶标仪、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 15000 g 离心 20 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 15000 g 离心 20 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酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm。

②试验前将试剂一 37℃预热 15 min 以上。

③在 96 孔 UV 板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℃恒温准确反应 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 $\Delta A_{\text{测定}} = A2_{\text{测定}} - A1_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A2_{\text{空白}} - A1_{\text{空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。
注：空白组只需测定 1-2 次。

3.乙醛脱氢酶（ALDH）活性计算

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。

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

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。

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

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。

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

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。

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

注释：V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.04 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积，2×10⁻⁴L；ε：NADH 摩尔消光系数，6.22×10³ L/mol/cm；d：96 孔 UV 板光径，0.5 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：酶促反应时间：1 min；10⁹：单位换算系数，1 mol=10⁹ nmol。

四、注意事项

- ①若吸光值大于 3.0，请确认 96 孔板是否为 96 孔 UV 板；
- ②若 A2 测定大于 1.5 或 ΔA 大于 0.5，建议将粗酶液使用蒸馏水适当稀释后再进行测定；若 ΔA 小于 0.02，建议适当增加样本量或延长酶促反应时间（延长 5-10 min）后再进行测定，计算时相应修改；
- ③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；若同时测定多个样本，应使用多道移液器且分批进行测定，以确保组间反应时间一致；
- ④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.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China
TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

