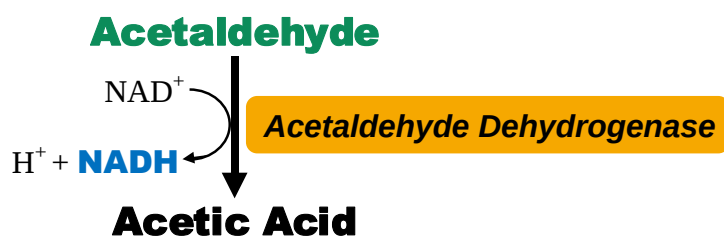




线粒体乙醛脱氢酶 (ALDH2) 活性检测试剂盒

Mitochondrial Aldehyde Dehydrogenase (ALDH2) Activity Assay Kit



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



线粒体乙醛脱氢酶 (ALDH2) 活性检测试剂盒

Mitochondrial Aldehyde Dehydrogenase (ALDH2) 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。

线粒体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线粒体乙醛脱氢酶的活性。

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 110 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 15 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×2 支	-20°C 保存	使用前每支加入 1.5 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 500 μL ×1 支	4°C 保存	-
试剂四	液体 1 mL×1 支	4°C 保存	-
试剂五	液体 2.8 mL×1 瓶	4°C 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、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称取 100 mg 组织或收集 500 万细胞，加入 1 mL 提取液，使用匀浆器或研钵冰浴研磨至匀浆，匀浆液 4°C 600 g 离心 10 min，弃沉淀，留上清；
- ②吸取步骤①离心后上清液至另一离心管中，4°C 12000 g 离心 10 min，弃上清，留沉淀；
- ③步骤②离心后沉淀中加入 400 μL 提取液，冰浴超声破碎（功率 20% 或 200 W，超声 5 s，间隔 10 s，重复 15 次）即为粗酶液，用于线粒体乙醛脱氢酶活性测定（可用于蛋白含量测定）。

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检测工作液的制备（现用现配）：根据使用量按试剂一：试剂二：试剂三：试剂四：试剂五=55:10:2:3:10 配制，充分混匀即为检测工作液，使用前将检测工作液 37°C 预热 20 min 以上。

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	-	40
检测工作液	160	160

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 1 min 时（总时间）340 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②37°C 准确反应 30 min，测定 31 min（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.线粒体乙醛脱氢酶（ALDH2）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。

$$\text{ALDH2 (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{53.59 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

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。

$$\text{ALDH2 (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{21.436 \times \Delta A}{W}$$

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。

$$\text{ALDH2 (U/10}^4\text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{21.436 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

3.2 使用微量石英比色皿测定的计算公式

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。

$$\text{ALDH2 (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{26.795 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

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。

$$\text{ALDH2 (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{10.718 \times \Delta A}{W}$$

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。

$$\text{ALDH2 (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{10.718 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

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，0.4 mL；V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-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：30 min； 10^9 ：单位换算系数，1 mol = 10^9 nmol。

四、注意事项

- ①试剂四具有一定刺激性，建议实验过程中做好相应防护；
- ②提取液中含有约 1 mg/mL 蛋白，测定样本蛋白浓度时需减去提取液本身的蛋白含量；
- ③准确在相应时间点完成吸光值测定，以保证实验结果的准确性和重复性；若使用酶标仪应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；
- ④若 ΔA 大于 1.0，建议将粗酶液适当稀释后再进行测定；若 ΔA 小于 0.01，建议适当延长酶促反应时间或增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；
- ⑤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.

