

乙醛脱氢酶（ALDH）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1010

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：动植物组织、细胞、细菌、血清（浆）等液体样本

产品简介

乙醛脱氢酶（EC 1.2.1.10）是醛脱氢酶的一种，广泛存在于各种动物、植物和微生物体内。主要作用是将乙醛氧化成乙酸，在酒精代谢中起主要作用。在人类和许多动物体内，线粒体乙醛脱氢酶能把对生物体有害的醇类转化，所以在细胞解毒研究中乙醛脱氢酶受到高度关注；同时，乙醛脱氢酶在分子生物学以及相关疾病的检测方面有较广泛的研究应用。本试剂盒提供了一种简单的检测方法检测生物样本中乙醛脱氢酶（ALDH）的活性水平。其原理是在辅酶 I 存在的条件下，乙醛脱氢酶催化乙醛和 NAD⁺ 转化为乙酸和 NADH，在 340nm 处的吸光值会增加，测定 340nm 处的吸光值变化，可计算得到乙醛脱氢酶的活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
提取液	50mL	100mL	4℃ 保存
试剂一	12.5mL	25mL	4℃ 保存
试剂二	1mL	2mL	4℃ 避光保存

自备耗材

酶标仪或紫外分光光度计（能测 340nm 处的吸光度）及恒温箱

96 孔 UV 板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头

低温离心机、制冰机

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 避光保存。

工作液：临用前按样本数量，按试剂一：试剂二=200μL:10μL 的比例混合，充分混匀，配制成工作液，现用现配。

样本制备

组织样本：称取 0.1g 组织加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆。匀浆液于 4℃，10,000g 离心 10min。取上清，置于冰上待测。

细胞和细菌样本：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，低速 600g 离心 5min，弃上清液，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎 5min（功率 20% 或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 4℃，10,000g 离心 10min，取上清，置冰上待测。

血浆、血清等液体样本：直接检测。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存一个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 340nm，紫外分光光度计去离子水调零。
2. 工作液置于 25℃（一般物种）或者 37℃（哺乳动物）预热 30min。
3. 样本测定：在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入 20 μL 样本，180 μL 工作液。充分混匀，立刻记录 340nm 处初始吸光值 A_1 ，迅速放入 25℃（一般物种）或者 37℃（哺乳动物）恒温箱中，准确反应 5min。迅速取出记录 5min 时的吸光度 A_2 。计算 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

注意：1. 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 ΔA 小于 0.001 可适当加大样本量；如果 ΔA 大于 0.5，可用提取液稀释样品，计算时结果乘以稀释倍数。

2. 测定反应的温度对测定结果有影响，请控制在 25℃（一般物种）或者 37℃（哺乳动物）。
3. 因通过反应速率计算酶活，使用 96 孔 UV 板时请根据操作速度控制一次测定的样本数（通常一次测定 4-8 个样本）。

结果计算

ALDH 酶活计算

A. 使用 96 孔板测定的计算公式

1. 按样本质量计算：

酶活定义：每克样品在反应体系中每分钟催化还原 1nmol NAD⁺的酶量为 1 个酶活单位。

$$\text{ALDH 酶活 (nmol/min/g)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}}) \div T = 643 \times \Delta A \div W$$

2. 按蛋白浓度计算：

酶活定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化还原 1nmol NAD⁺的酶量为 1 个酶活单位。

$$\text{ALDH 酶活 (nmol/min/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 643 \times \Delta A \div Cpr$$

3. 按细菌或细胞数量计算：

单位的定义：每 10^4 个细菌或细胞在反应体系中每分钟催化还原 1nmol NAD⁺的酶量为 1 个酶活单位。

$$\text{ALDH 酶活 (nmol/min/10}^4 \text{ Cells)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}}) \div T = 1.286 \times \Delta A$$

4. 按液体体积计算：

单位的定义：每 mL 液体样本在反应体系中每分钟催化还原 1nmol NAD⁺的酶量为 1 个酶活单位。

$$\text{ALDH 酶活 (nmol/min/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 643 \times \Delta A$$

$V_{\text{反应}}$ ：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 ：96 孔板光径，0.5cm； 10^9 ：1 mol = 10^9 nmol； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； T ：反应时间，5min； Cpr ：样本蛋白质浓度，mg/mL； W ：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500 万个。

B. 使用微量石英比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中光径 d ：0.5cm 调整为 d ：1cm 进行计算即可。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK0999 辅酶 I NAD(H) 检测试剂盒（微量法）
- PMK1000 NAD 激酶（NADK）检测试剂盒（微量法）
- PMK1004 NADH 氧化酶（NOX）检测试剂盒（微量法）
- PMK1005 柠檬酸合酶（CS）检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

