

醛酮还原酶（AKRs）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1897

保存：-20℃保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：血清（浆）、动植物组织/细胞、细菌

产品简介

醛酮还原酶(Aldo-keto reductase, AKRs)分布于原核生物和真核生物中, 存在多种亚型。醛酮还原酶是一类重要的氧化还原酶, 参与细胞中有毒羰基化合物的代谢。AKRs 可催化 NADPH 依赖性的羰基还原反应, 生成相应的醇。AKRs 与多种疾病密切相关, 因此, 了解醛酮还原酶与多种疾病的关系意义重大。研究表明 AKR1B10 与肿瘤关系密切, 在肿瘤的发生发展过程中发挥重要的作用。本试剂盒可检测各种生物样本中醛酮还原酶 (AKRs) 活性, 原理是 AKRs 催化底物和 NADPH 生成 NADP⁺, NADPH 在 340nm 有吸收峰, 而 NADP⁺没有; 通过测定 340nm 光吸收下降速率, 计算 AKRs 活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃ 保存
试剂一	12mL	24mL	4℃ 保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	-20℃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）
恒温箱、制冰机、低温离心机
96 孔 UV 板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头
去离子水
匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

注意：小管试剂开盖前，请先低速离心。

提取液：即用型；4℃ 保存。

工作液：临用前配制，每瓶试剂二中加入 10mL 试剂一中溶解，现用现配。

样本制备

1. 组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，12,000g，4℃ 离心 10min，取上清液置冰上待测。
2. 细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 12,000g，4℃ 离心 10min，取上清液，置冰上待测。
3. 血清（浆）：直接测定。

注意：1. 推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 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。

2. 对于脂肪含量较高的动物组织，离心后移除上层脂肪，再取上清液。

实验步骤

产品说明书

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. 工作液于 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）孵育 10min。
3. 样本测定：在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入 20μL 样本和 180 μL 工作液；充分混匀后，立即记录 340nm 处 20s 时的吸光值 A_1 和 5min20s 后的吸光值 A_2 ，计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_2 - A_1$ 。

注意：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 0.3，样本可用提取液进一步稀释（计算结果乘以稀释倍数），或减少提取用样本量。

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

A. 用 96 孔板测定的计算公式如下

（1）按照样本质量计算

酶活性定义：每克组织在反应体系中每分钟催化 1nmolNADPH 转化。

AKRs 活性 (U/g 鲜重) = $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T \times n = 643.09 \times \Delta A \div W \times n$

（2）按照蛋白浓度计算

酶活性定义：每 mg 蛋白在反应体系中每分钟催化 1nmolNADPH 转化。

AKRs 活性 (U/mg prot) = $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T \times n = 643.09 \times \Delta A \div Cpr \times n$

（3）按液体体积计算

酶活性定义：每毫升液体样本在反应体系中每分钟催化 1nmolNADPH 转化。

AKRs 活性 (U/mL) = $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T \times n = 643.09 \times \Delta A \times n$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，L，200 μL = 2×10^{-4} L； ϵ ：NADPH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm；d：96 孔板光径，0.5cm； 10^9 ：1mol = 1×10^9 nmol； $V_{\text{样}}$ ：加入上清液体积，0.02mL； $V_{\text{样总}}$ ：提取液体积，1mL；W：样品质量，g；T：反应时间，5min；n：样本稀释倍数；Cpr：蛋白浓度，mg/mL。

B. 使用微量石英比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中的光径 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：

PMK1022 谷胱甘肽还原酶 (GR) 检测试剂盒（微量法）
PMK1069 硝酸还原酶 (NR) 检测试剂盒（NADH 速率法/微量法）
PMK1070 亚硝酸还原酶 (NiR) 检测试剂盒（微量法）
PMK1231 高铁还原酶 (FCR) 检测试剂盒（微量法）
PMK1047 蛋白质羧基检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

