



乙醛脱氢酶 (ALDH) 活性检测试剂盒 (紫外比色法)

包装清单

Cat No.	组分	包装规格-50T
MCK-0044	提取液	液体 60mL×1 瓶
	试剂一	液体 20mL×1 瓶
	试剂二	粉剂×2 瓶
	试剂三	液体 1.2mL×1 支
	试剂四	液体 2mL×1 瓶
	试剂五	液体 20mL×1 瓶
	说明书	1 份

产品简介

乙醛脱氢酶 (ALDH) 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。在辅酶 I 的存在下, 它催化乙醇在内的某些一级或二级醇、醛或酮的脱氢反应。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。乙醛脱氢酶催化乙醇和 NAD^+ 转化为乙酸和 NADH, 利用 NADH 在 340nm 处吸光值的变化即可计算得到乙醛脱氢酶的活性。

保存条件

2-8° C 避光保存。其中, 试剂二 -20° C 避光保存。

注意事项

1. 试剂二临用前取一支加入 3mL 蒸馏水溶解, -20° C 分装保存 4 周, 避免反复冻融。
2. 试剂四为有毒试剂, 实验室注意防护。
3. 试剂五沸点低, 在使用时保持低温以保证正确的吸取量。
4. 空白管为检测各试剂组分质量的检测孔, 正常情况下, 其 OD 值不超过 0.3, 变化不超过 0.01。
5. ΔA 大于 1 时, 建议将样品稀释后再进行测定。当 ΔA 小于 0.01 时, 可以延长反应时间 (60min 或 更长时间) 来测定。计算时应同步更改计算公式。
6. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
7. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明

样本处理

1. 组织: 按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液) 进行冰浴匀浆, 然后 10000g, 4° C, 离心 20min, 取上清置于冰上待测。
2. 细胞: 按照细胞数量 (10^4 个): 提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL 提取液), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 然后 10000g, 4° C, 离心 20min, 取上清置于冰上待测。
3. 血清 (浆) 等液体: 直接检测。若液体有浑浊则离心后进行测定。

操作步骤 (注: 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。)

1. 紫外分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 340nm, 蒸馏水调零。
2. 工作液: 临用前根据样本数量按照试剂一: 试剂二: 试剂三: 试剂四=300 μ L: 100 μ L: 20 μ L: 30 μ L(1T) 的比例配制工作液, 现用现配。
3. 工作液 37° C 预热 10min。
4. 按操作表依次加入各试剂。

注: 在 1mL 石英比色皿中分别加入上述试剂, 充分混匀后于 340nm 处测定 1min 时的吸光值 A1, 迅速置于 37° C 水浴 30min, 拿出迅速擦干测定 31min 时的吸光值 A2, 计算 ΔA 测定管=A2 测定-A1 测定, ΔA 空白管=A2 空白-A1 空白, $\Delta A = \Delta A$ 测定管 - ΔA 空白管。(空白管需做 1-2 次)



试剂名称(μL)	测定管	空白管
样本	200	/
蒸馏水	/	200
工作液	450	450
试剂五	350	350

活性计算**1. 按蛋白浓度计算**

(1) 酶活定义:每毫克蛋白每分钟生成 1nmol 的 NADH 定义为 1 个酶活单位。

(2) ALDH 酶活 (U/mgprot) = $\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 26.795 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$

2. 按样本质量计算

(1) 酶活定义:每克样本每分钟生成 1nmol 的 NADH 定义为 1 个酶活单位。

(2) ALDH 酶活 (U/g 质量) = $\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W + V_{\text{样总}}) \div T = 26.795 \times \Delta A \div W$

3. 按细胞/细菌数量计算

(1) 酶活定义: 每 10 个细胞/细菌每分钟生成 1nmol 的 NADH 定义为 1 个酶活单位。

(2) ALDH 酶活 (U/106cell) = $\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} + V_{\text{样总}} \times N) \div T = 26.795 \times \Delta A \div N$

4. 按液体体积计算

(1) 酶活定义: 每 mL 样本每分钟生成 1nmol 的 NADH 定义为 1 个酶活单位。

(2) ALDH 酶活(U/mL) = $\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 26.795 \times \Delta A$

注: ϵ : NADH 摩尔消光系数, $6.22 \times 10^3 \text{L/molcm}$;

d : 比色皿光径, 1cm;

$V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 0.001L;

$V_{\text{样}}$: 反应体系中加入样本上清体积, 0.2mL;

$V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL;

C_{pr} : 样本蛋白浓度, mg/mL, 需自行测定;

W : 样本质量, g;

N : 细胞/细菌总数, 以 10^6 计;

T : 反应时间: 30min;

10^9 : 单位换算系数, $1\text{mol}=10^9\text{nmol}$ 。