

Acetaldehyde Dehydrogenase Assay Kit

乙醛脱氢酶 (ALDH) 试剂盒说明书

货号: G0828F | 方法: 可见分光法 | 规格: 48 样

一、产品简介:

乙醛脱氢酶 (ALDH, 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。

本公司提供一种简单, 快速, 可靠的定量 ALDH 酶活性的方法。在这个测定中, 乙醛被 ALDH 氧化产生 NADH, 然后将无色探针还原成有色产物, 在 450nm 处具有强吸光度, 即可得到乙醛脱氢酶 (ALDH) 酶活性大小。

二、试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂一	粉体 mg×1 瓶	4°C 保存	临用前离心或用几下使粉体落入底部, 再加 4.2mL 蒸馏水溶解备用。
试剂二	液体 2.5mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂三	液体 70mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂四	液体 1mL×1 支	-20°C 保存	临用前取两支新的 EP 管, 向其中一支先加 1.1mL 蒸馏水, 再迅速吸取 0.1mL 的试剂四至蒸馏水中, 混匀备用。(该试剂极易挥发, 所以吸取操作时动作需迅速)
标准品	粉体 mg×1 支	4°C 保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、可调式移液器、水浴锅、研钵、天平、离心机、蒸馏水。

四、乙醛脱氢酶 (ALDH) 酶活测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品和实验流程, 避免样本和试剂浪费!

1、样本制备:

① 组织样本: 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆。12000rpm, 4°C 离心 10min, 取上清置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例进行提取。

② 细菌/培养细胞: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照细菌或细胞数量 (10^4 个): 建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000rpm, 4°C 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照数量 (10^4 个): 提取液体积为 500~1000: 1 的比例进行提取。

③ 液体样本: 直接检测。若浑浊, 离心后取上清检测。

2、上机检测:

① 可见分光光度计预热 30 min 以上, 调节波长到 450nm, 蒸馏水调零。

② 制备对照管样本: 取出同一个样本的部分上清液至一新 EP 管中, 于 95°C 水浴中煮沸 10min 后取出, 冷却至室温后于 12000rpm, 4°C 或者室温离心 10min, 取离心后

的上清液作为该样本的对照管样本备用。

- ③ 试剂解冻至室温 (25°C), 或可放在 25°C 条件下水浴 5-15min。
- ④ 试剂一和二和三和四可按照 40:25:615:40 比例配成混合液(一枪加 720μL 该混合液)(该混合液用多少配多少, 现配现用)。
- ⑤ 依次在 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中加入:

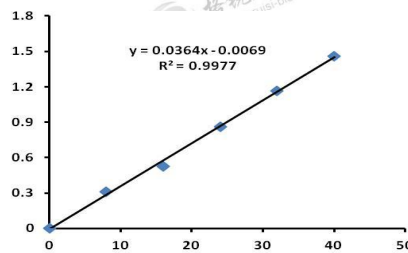
试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	80	80 (煮沸的样本)
试剂一	40	40
试剂二	25	25
试剂三	615	615
试剂四	40	40

混匀, 30s 时在 450nm 处读取各管吸光值 A1, 30min 后读取各管吸光值 A2, $\Delta A = (A2 - A1)$ 测定 - (A2 - A1) 对照 (每个样本需做一个自身对照)。

注意: 本操作流程适用于绝大多数常规样本检测, 实验条件可根据实际样本状态适度微调; 针对特殊类型样本, 我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算:

- 1、标准曲线方程: $y = 0.0364x - 0.0069$; x 是 NADH 摩尔质量 (nmol), y 是 ΔA 。



标准曲线示意图

说明: 标准曲线由标准品测定获得, 具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

- 2、按蛋白浓度计算:

酶活定义: 每毫克蛋白每分钟催化生成 1nmol NADH 的酶量为 1 个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{ALDH 酶活}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) &= [(\Delta A + 0.0069) \div 0.0364] \div (\text{Cpr} \times V1 \div V) \div T \\ &= 11.45 \times (\Delta A + 0.0069) \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

- 3、按样本质量计算:

酶活定义: 每克样品每分钟催化生成 1nmol NADH 的酶量为 1 个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{ALDH 酶活}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0069) \div 0.0364] \div (W \times V1 \div V) \div T \\ &= 11.45 \times (\Delta A + 0.0069) \div W \end{aligned}$$

- 4、按细菌/细胞密度计算:

定义: 每 1 万个细菌或细胞每分钟催化生成 1nmol NADH 的酶量为 1 个酶活单位。

$$\text{ALDH}(\text{nmol}/\text{min}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0069) \div 0.0364] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.023 \times (\Delta A + 0.0069)$$

- 5、按液体体积计算:

酶活定义: 每毫升液体样本每分钟催化生成 1nmol NADH 的酶量为 1 个酶活单位。

$$\text{ALDH 酶活}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}) = [(\Delta A + 0.0069) \div 0.0364] \div V1 \div T = 11.45 \times (\Delta A + 0.0069)$$

V---加入提取液体积, 1 mL; V1---加入样本体积, 0.08mL;

T---反应时间, 30 min; W---样本质量, g;

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL; 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。