

乙醛脱氢酶 (ALDH) 活性检测试剂盒 (微量法)

产品货号: BA1448

产品规格: 100管/96样

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。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。

乙醛脱氢酶催化乙醛和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。

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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

试验中所需的仪器和试剂:

紫外分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、微量石英比色皿/96孔板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体100mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体10mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×1瓶	-20℃
试剂三	液体0.5mL×1瓶	2-8℃
试剂四	液体1mL×1瓶	2-8℃
试剂五	液体2mL×1瓶	2-8℃

溶液的配制:

1. 试剂二: 临用前加入3mL蒸馏水溶解, -20℃分装保存;
2. 试剂五: 沸点低, 在使用时保持低温以保证正确的吸取量。

操作步骤 (仅供参考):

一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

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, 10000g, 4℃离心 20min, 取上清液待测。
2. 细胞: 按照细胞数量 (10⁴ 个): 提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液), 冰浴超声波破碎细菌或细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 然后 10000g, 4℃, 离心 20min, 取上清置于冰上待测。
3. 液体: 直接检测。

二、测定步骤

1. 紫外分光光度计/酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 340nm, 蒸馏水调零。
2. 将试剂一 37℃ (哺乳动物) 或 25℃ (其他物种) 预热 15min。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

3. 操作表:

试剂名称 (μL)	空白管	测定管
样本	-	40
蒸馏水	100	60
试剂一	60	60
试剂二	20	20
试剂三	4	4
试剂四	6	6
试剂五	10	10

在微量石英比色皿/96孔UV板中分别加入上述试剂，充分混匀后于340nm处测定30s时的吸光值A1，迅速置于37℃（哺乳动物）或25℃（其他物种）水浴或培养箱1min（酶标仪有控温功能可将温度调至37℃或25℃），拿出迅速擦干测定90s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，ΔA=ΔA测定管-ΔA空白管。（空白管需做1-2次）

三、ALDH 酶活计算

A 按微量石英比色皿计算:

1. 按蛋白浓度计算

酶活定义：每毫克蛋白每分钟消耗1nmol的NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{ALDH 酶活 (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 804 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2. 按样本质量计算

酶活定义：每克样本每分钟消耗1nmol的NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{ALDH 酶活 (U/g 质量)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 804 \times \Delta A \div W$$

3. 按细菌或细胞数量计算

酶活定义：每10⁴个细胞每分钟消耗1nmol的NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{ALDH 酶活 (U/10}^4\text{cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量 (万个)}) \div T = 804 \times \Delta A \div \text{细胞数量 (万个)}$$

4. 按液体体积计算

酶活定义：每毫升液体每分钟消耗1nmol的NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{ALDH 酶活 (U/mL)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 804 \times \Delta A$$

ε: NADH摩尔消光系数, 6.22×10³L/mol/cm; d: 比色皿光径, 1cm; V反总: 反应体系总体积, 2×10⁻⁴L;

V样: 反应体系中样本体积, 0.04mL; V样总: 提取液体积, 1mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL, 需自行测定;

W: 样本质量, g; T: 反应时间: 1min; 10⁹: 单位换算系数, 1mol=10⁹nmol。

B 按96孔UV板计算:

将上述公式中的d-1cm改为d-0.6cm(96孔UV板光径)进行计算即可。

注意事项:

- 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。
- ΔA大于1时，建议将样本稀释后再进行测定。当ΔA小于0.01时，可以延长反应时间（5min或10min）来测定。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com