Acetaldehyde Dehydrogenase Assay Kit

乙醛脱氢酶（ALDH）试剂盒说明书

货号：BN72658 | 方法：微板法 | 规格：96 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 120mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉体 mg×1 支	4℃保存	临用前离心或甩几下使粉体落入底部，再加 2.1mL 蒸馏水溶解备用。
试剂二	液体 2mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 45mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	液体 1mL×1 支	-20℃保存	临用前取两支新的 EP 管，向新 EP 管中先加 1.1mL 蒸馏水，再**迅速**吸取 0.1mL 试剂四至该 EP 管中，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℃保存	若重新做标曲，则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、研钵、水浴锅、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℃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℃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 酶标仪预热 30 min 以上，调节波长到 450nm。

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℃水浴中煮沸 10min 后取出，冷却至室温后于 12000rpm，4℃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℃），或可放在 25℃条件下水浴 5-15min。

④ 试剂一和二和三和四可按照 10:10:150:10 比例配成混合液（一枪加 180μL 该混合液）（**该混合液用多少配多少，现配现用**）。

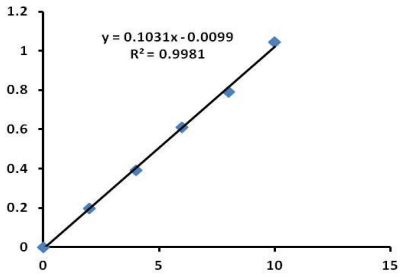
⑤ 依次在 96 孔板中加入：

试剂名称（μL）	测定管	对照管
样本	20	20（煮沸的样本）
试剂一	10	10
试剂二	10	10
试剂三	150	150
试剂四	10	10
混匀，室温（25℃）下，30s 时于 450nm 处读取各管吸光值 A1，30min 后读取各管吸光值 A2，△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：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。

ALDH 酶活(nmol/min/mg prot)=[(ΔA+0.0099)÷0.1031]÷(Cpr×V1÷V)÷T

=16.17×(ΔA+0.0099)÷Cpr

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。

ALDH 酶活(nmol/min/g 鲜重)=[(ΔA+0.0099)÷0.1031]÷(W×V1÷V)÷T

=16.17×(ΔA+0.0099)÷W

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。

ALDH(nmol/min/10^4 cell)=[(ΔA+0.0099)÷0.1031]÷(500×V1÷V)÷T=0.03×(ΔA+0.0099)

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。

ALDH 酶活(nmol/min/mL)=[(ΔA+0.0099)÷0.1031]÷V1÷T=16.17×(ΔA+0.0099）

V---加入提取液体积，1 mL； V1---加入样本体积，0.02 mL；

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。