

乙醛脱氢酶试剂盒(可见显色法)

- 【产品简介】 ◆乙醛脱氢酶 (ALDH, EC1. 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。

【货 号】 TPL006

【规 格】 96T

【包装清单】

试剂名称	规格	保存条件	
提取液	液体60mL×1瓶	4℃	
试剂一	粉体mg×1瓶	4℃	临用前离心或甩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℃	
试剂三	液体70mL×1瓶	4℃	
试剂四	液体1mL×1支	-20℃	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℃	若重新做标曲, 则用到该试剂。

【保存条件】 4℃保存, 有效期一年。

【操作步骤】 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/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取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，300W，超声3s，间隔 7s，总时间3min）；12000rpm，4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

注：若增加样本量，按照细菌/细胞数量(10^4 个):提取液体积(mL)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、上机测定：

①可见分光光度计预热30min以上，调节波长至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℃ 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40:25:615:40比例配成混合液（一枪加720uL 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 (uL)	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时于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）。		

⑥标准曲线结果计算①由标准品测定获得，如需重制见随货说明书或咨询。

3、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 。

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) = $[(\Delta A + 0.0069) \div 0.0364] \div (C_{pr} \times V_1 \div V) \div T = 11.45 \times (\Delta A + 0.0069) \div C_{pr}$

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。

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

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。

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

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。

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

V--提取液体积, 1mL;

V1--加入样本体积, 0.08mL;

W--样本质量, g;

T--反应时间, 30min;

Cpr--样本蛋白质浓度, mg/mL; W--样本质量, g;

- 【注意事项】**
- 1、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。
 - 2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。