

乙醛脱氢酶测试盒说明书(精简版)

(A075-1-1 Acetaldehyde dehydrogenase, ALDH 分光光度法 50T/48样)

免责声明: 测试前请仔细阅读说明书, 预试后再进行批量实验, 否则由此导致的后果用户自行承担!

一、测定原理:

在辅酶 I 存在的条件下, 乙醛脱氢酶催化乙醛和NAD⁺转化为乙酸和NADH, 在340nm 处的吸光值会增加, 测定340nm 处的吸光值变化, 可计算得到乙醛脱氢酶的活性。

二、测定意义:

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。主要作用是将乙醛氧化成乙酸, 在酒精代谢中起主要作用。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 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。

三、自备仪器或用品:

含 340nm 波长的紫外分光光度计及 1cm 光径狭缝石英比色皿、离心机、37℃恒温水浴锅或气浴箱、可调式移液器、研钵、蒸馏水、天平。

四、试剂盒组成: (试剂盒有效期 3 个月)

	规格	保存
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存
试剂一	液体 60mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	液体 3mL×1 瓶	4℃避光保存

五、粗酶液提取:

- 1、培养细胞: 按照细胞数量 (10⁴ 个): 提取液体积 (mL) 为 500~1000:1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL 提取液), 超声波破碎细胞 (冰浴, 功率 300W, 超声 3s、间隔 7s, 超声 3min); 10000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 2、组织: 按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1:5~10 的比例 (建议取 0.1g 组织, 加 1mL 提取液), 进行冰浴匀浆; 10000g 4℃离心 20min, 取上清, 置冰上待测。
- 3、液体样本: 直接取样测定。

六、操作步骤:

- 1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 340nm, 蒸馏水调零。
- 2、工作液配置: 按照试剂一: 试剂二=20:1 的比例配置, 用多少配多少, 充分混匀。

	测定管
待测样本 (mL)	0.1
工作液 (mL)	0.9
充分混匀, 340nm 处读吸光度 A1, 37℃温浴 5 分钟, 340nm 处读吸光度 A2, 计算 ΔA=A2-A1	

七、单位定义与计算:

(1) 按蛋白浓度计算:

单位定义: 每 mg 组织蛋白每分钟催化还原 1nmol NAD⁺的酶量定义为 1 个酶活力单位。

$$\text{ALDH 酶活力 (U/mgprot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反应}}}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{322 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

(2) 按样本鲜重计算:

单位定义: 每 g 组织每分钟催化还原 1nmol NAD⁺的酶量定义为 1 个酶活力单位。

$$\text{ALDH 酶活力 (U/g 鲜重)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反应}} \times V_{\text{样总}}}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{322 \times \Delta A}{W}$$

(3) 按细胞数量计算:

单位定义: 每 1 万个细胞每分钟催化还原 1nmol NAD⁺的酶量定义为 1 个酶活力单位。

$$\text{ALDH 酶活力 (U/10}^4 \text{细胞)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反应}} \times V_{\text{样总}}}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{细胞数} \times T} = \frac{322 \times \Delta A}{\text{细胞数}}$$

(4) 按照液体体积计算

单位定义: 每 mL 样本每分钟催化还原 1nmol NAD⁺的酶量定义为 1 个酶活力单位。

$$\text{ALDH 酶活力 (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反应}}}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T} = 322 \times \Delta A$$

注: V_{反应}: 反应体系总体积, 1mL; ε: NADH 摩尔消光系数, 6.22×10³L/μmol/cm; d: 比色皿光径, 1cm; V_样: 加入样本体积, 0.1mL; V_{样总}: 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 5min; Cpr: 样本蛋白浓度,



mg/mL; W: 样本质量, g。