乙醛脱氢酶（ALDH）活性检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC0755

规格：100T/96S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 110 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 10 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×2 支	-20℃保存
试剂三	液体 0.5 mL×1 支	2-8℃保存
试剂四	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存
试剂五	液体 8 mL×1 瓶	2-8℃保存

溶液的配制：

1、 试剂二：临用前取一支试剂二加入 1.5mL 蒸馏水溶解，用不完的试剂-20℃分装保存 4 周，避免反复冻融；

2、 试剂四：为有毒试剂，实验室注意防护；

3、 工作液：临用前根据样本数量按照试剂一：试剂二：试剂三：试剂四=60μL：20μL：4μL：6μL（1T）的比例配制工作液，现用现配。

产品说明：

乙醛脱氢酶（acetaldehyde dehydrogenase，ALDH）是醛脱氢酶的一种，能够催化乙醛、正丁醛、肉桂醛、苯甲醛等有毒醛类快速脱氢，催化醛类物质氧化生成羧酸，清除有害醛类并减少脂类的过氧化反应，被认为是生物体内活性氧物质的解毒剂。乙醛脱氢酶不仅能够转化代谢对生物体有害的醛类，还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。

$$\text{Acetaldehyde} + NAD^+ \xrightarrow{\text{Acetaldehyde Dehydrogenase}} \text{Acetic Acid} + H^+ + \text{NADH (340nm)}$$

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。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计/酶标仪、台式离心机、分析天平、水浴锅/恒温培养箱、微量石英比色皿/96孔UV板、可调式移液枪、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。

操作步骤：

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. 组织样本：按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例加入提取液（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液）进行冰浴匀浆，于 4℃，10000g 离心 20min，取上清置于冰上待测。
2. 细胞/细菌样本：按照细胞/细菌数量（10^4 个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例加入提取液（建议 500 万细胞/细菌加入 1mL 提取液），冰浴超声波破碎（功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min）；于 4℃，10000g 离心 20min，取上清置于冰上待测。
3. 血清（浆）等液体：直接检测。若液体有浑浊则离心后进行测定。

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，紫外分光光度计蒸馏水调零。

2、工作液37℃预热10min。

3、操作表：

试剂名称（μL）	空白管	测定管
样本	-	40
蒸馏水	40	-
工作液	90	90
试剂五	70	70
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 1min 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 30min（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 31min 时的吸光值 A2，计算 ΔA 测定=A2 测定-A1 测定，ΔA 空白=A2 空白-A1 空白，ΔA=ΔA 测定-ΔA 空白。空白管只需做 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：每毫克蛋白每分钟生成1nmol的NADH定义为1个酶活单位。

   ALDH酶活（U/mg prot）=ΔA÷（ε×d）×10^9×V反总÷（V样×Cpr）÷T=26.795×ΔA÷Cpr
2. 按样本质量计算

   酶活定义：每克样本每分钟生成1nmol的NADH定义为1个酶活单位。

   ALDH酶活（U/g 质量）=ΔA÷（ε×d）×10^9×V反总÷（V样×W÷V样总）÷T=26.795×ΔA÷W
3. 按细胞/细菌数量计算

   酶活定义：每10^6个细胞/细菌每分钟生成1nmol的NADH定义为1个酶活单位。

   ALDH酶活（U/10^6 cell）=ΔA÷（ε×d）×10^9×V反总÷（V样÷V样总×N）÷T=26.795×ΔA÷N
4. 按液体体积计算

   酶活定义：每mL样本每分钟生成1nmol的NADH定义为1个酶活单位。

   ALDH酶活（U/mL）=ΔA÷（ε×d）×10^9×V反总÷V样÷T=26.795×ΔA

   ε：NADH摩尔消光系数，6.22×10^3 L/mol/cm；d：微量石英比色皿光径，1cm；V反总：反应体系总体积，2×10^{-4}L；V样：反应体系中加入样本上清体积，0.04mL；V样总：加入提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL，需自行测定；W：样本质量，g；N：细胞/细菌总数，以10^6计；T：反应时间，30min；10^9：单位换算系数，1mol=10^9nmol。

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。

本产品仅供科学研究使用。请勿用于临床、诊断、食品、化妆品检测等用途。
For research use only. Do not use for clinical, diagnostic, food, cosmetic testing and other purposes.

注意事项：

1、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（微量石英比色皿）0.2（96 孔 UV 板），变化不超过 0.01。

2、样品 ΔA 大于 1 时，建议将样本用提取液稀释后再进行测定。当 ΔA 小于 0.01 时，可以延长反应时间（60min 或更长时间）来测定。计算时注意同步更改计算公式。

实验实例：

1、取 0.1084g 兔肝脏，加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆研磨，离心取上清，之后按照测定步骤操作，用 96 孔 UV 板测得计算 ΔA 测定=A2 测定-A1 测=0.878-0.838=0.040，ΔA 空白=A2 空白-A1 空白=0，ΔA=ΔA 测定-ΔA 空白=0.040-0=0.040，按样本质量计算酶活得：

ALDH 酶活（U/g 质量）=0.040÷（6.22×10^3×0.6）×10^9×2×10^{-4}÷（0.04×0.1084÷1）÷30=16.479 U/g 质量。

2、取 0.1100g 小鼠肝脏，加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆研磨，离心取上清，之后按照测定步骤操作，用 96 孔 UV 板测得计算 ΔA 测定=A2 测定-A1 测=1.624-0.798=0.826，ΔA 空白=A2 空白-A1 空白=0，ΔA=ΔA 测定-ΔA 空白=0.826-0-0.826，按样本质量计算酶活得：

ALDH 酶活（U/g 质量）=0.826÷（6.22×10^3×0.6）×10^9×2×10^{-4}÷（0.04×0.1100÷1）÷30=335.347 U/g 质量。

相关发表文献：

[1] Fang M, Li Y, Liao Z, Wang G, Cao Q, Li Y, Duan Y, Han Y, Deng X, Wu F, Kamau PM, Lu Q, Lai R. Lipopolysaccharide-binding protein expression is increased by stress and inhibits monoamine synthesis to promote depressive symptoms. Immunity. 2023 Mar 14;56(3):620-634.e11. doi: 10.1016/j.immuni.2023.02.002. Epub 2023 Feb 27. PMID: 36854305.

[2] Zhang Q, Tong J, Zhou W, Zhong Z, Hu Q, Ma Q, Long H, Wu S, Shi X, Ye Q. Antibacterial and antioxidant chitosan nanoparticles improve the preservation effect for donor kidneys in vitro. Carbohydr Polym. 2022 Jul 1;287:119326. doi: 10.1016/j.carbpol.2022.119326. Epub 2022 Mar 8. PMID: 35422292.

[3] Guo L, Li F, Liu H, Kong D, Chen C, Sun S. SIX1 amplification modulates stemness and tumorigenesis in breast cancer. J Transl Med. 2023 Nov 29;21(1):866. doi: 10.1186/s12967-023-04679-2. PMID: 38031089; PMCID: PMC10685563.

[4] Gao Z, Wang D, Zhang H, Yang J, Li M, Lu H, Shen H, Tang Y. An iron-deficient diet prevents alcohol- or diethylnitrosamine-induced acute hepatotoxicity in mice by inhibiting ferroptosis. Curr Res Food Sci. 2022 Nov 5;5:2171-2177. doi: 10.1016/j.crfs.2022.11.001. PMID: 36387594; PMCID: PMC9664348.

[5] Yu PC, Liu D, Han ZX, Liang F, Hao CY, Lei YT, Guo CR, Wang WH, Li XH, Yang XN, Li CZ, Yu Y, Fan YZ. Thymopentin-Mediated Inhibition of Cancer Stem Cell Stemness Enhances the Cytotoxic Effect of Oxaliplatin on Colon Cancer Cells. Front Pharmacol. 2022 Feb 15;13:779715. doi: 10.3389/fphar.2022.779715. PMID: 35242031; PMCID: PMC8886222.

相关系列产品：

BC0590/BC0595　游离脂肪酸（FFA）含量检测试剂盒

BC2340/BC2345　脂肪酶（LPS）活性检测试剂盒

BC1080/BC1085　乙醇脱氢酶（ADH）活性检测试剂盒

本产品仅供科学研究使用。请勿用于临床、诊断、食品、化妆品检测等用途。
For research use only. Do not use for clinical, diagnostic, food, cosmetic testing and other purposes.