

乙醛脱氢酶（ALDH）活性检测试剂盒说明书

紫外分光光度法

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：BC0750

规格：50T/48S

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 60 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 20 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×2 瓶	-20℃保存
试剂三	液体 1.2mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 2 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂五	液体 20 mL×1 瓶	2-8℃保存

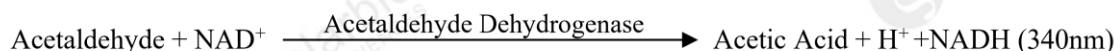
溶液的配制：

- 1、试剂二：临用前取一瓶试剂二加入 3 mL 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=300μL：100μL：20μL：30μL（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。



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、台式离心机、分析天平、水浴锅/恒温培养箱、1mL石英比色皿、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°C ，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. 紫外分光光度计预热30min以上，调节波长至340nm，蒸馏水调零。
2. 工作液 37°C 预热10min。
3. 操作表：

试剂名称（ μL ）	空白管	测定管
样本	-	200
蒸馏水	200	-
工作液	450	450
试剂五	350	350

在 1mL 石英比色皿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°C 水浴 30min，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， $\Delta A=\Delta A$ 测定- ΔA 空白。空白管只需做 1-2 次

三、ALDH酶活计算

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。

$$\text{ALDH酶活 (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 26.795 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

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。

$$\text{ALDH酶活 (U/g 质量)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 26.795 \times \Delta A \div W$$

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。

$$\text{ALDH酶活 (U/10}^6 \text{ cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times N) \div T = 26.795 \times \Delta A \div N$$

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。

$$\text{ALDH酶活 (U/mL)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 26.795 \times \Delta A$$

ϵ : NADH摩尔消光系数, $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$; d : 1mL石英比色皿光径, 1cm; $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 0.001L; $V_{\text{样}}$: 反应体系中加入样本上清体积, 0.2mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; C_{pr} : 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, $1\text{mol}=10^9\text{nmol}$ 。

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，变化不超过 0.01。
2. 样本 ΔA 大于 1，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 水稻叶片, 加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆研磨, 离心取上清稀释 2 倍, 之后按照测定步骤操作, 用 1mL 石英比色皿测得计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_2_{\text{测定}} - A_1_{\text{测}} = 0.844 - 0.758 = 0.086$, $\Delta A_{\text{空白}} = A_2_{\text{空白}} - A_1_{\text{空白}} = 0.094 - 0.092 = 0.002$, $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}} = 0.086 - 0.002 = 0.084$, 按样本质量计算酶活得:
ALDH 酶活 (U/g 质量) = $26.795 \times 0.084 \div 0.1084 \times 2 = 41.527$ U/g 质量。
- 2、取 0.1023g 兔肝脏, 加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆研磨, 离心取上清稀释 2 倍, 之后按照测定步骤操作, 用 1mL 石英比色皿测得计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_2_{\text{测定}} - A_1_{\text{测}} = 0.875 - 0.491 = 0.384$, $\Delta A_{\text{空白}} = A_2_{\text{空白}} - A_1_{\text{空白}} = 0.094 - 0.092 = 0.002$, $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}} = 0.384 - 0.002 = 0.382$, 按样本质量计算酶活得:
ALDH 酶活 (U/g 质量) = $26.795 \times 0.382 \div 0.1023 \times 2 = 200.111$ U/g 质量。

相关发表文献:

- [1] Lai X, Wang X, Wen S, Sun L, Chen R, Zhang Z, Li Q, Cao J, Lai Z, Li Z, Sun S, Liu X. Six Types of Tea Reduce Acute Alcoholism in Mice by Enhancing Ethanol Metabolism, Suppressing Oxidative Stress and Inflammation. *Front Nutr.* 2022 May 23;9:848918. doi: 10.3389/fnut.2022.848918. PMID: 35677547; PMCID: PMC9169692.
- [2] Qiao JY, Li W, Zeng RY, Yu YJ, Chen QW, Liu XH, Cheng SX, Zhang XZ. An orally delivered bacteria-based coacervate antidote for alcohol detoxification. *Biomaterials.* 2023 May;296:122072. doi: 10.1016/j.biomaterials.2023.122072. Epub 2023 Mar 1. PMID: 36878091.
- [3] Wang X, Liu Z, Wang Y, Gou S. Platinum(IV) Prodrugs with Cancer Stem Cell Inhibitory Effects on Lung Cancer for Overcoming Drug Resistance. *J Med Chem.* 2022 Jun 9;65(11):7933-7945. doi: 10.1021/acs.jmedchem.2c00472. Epub 2022 May 30. PMID: 35635560.
- [4] Zhang Y, Yang S, Wang J, Cai Y, Niu L, Liu X, Liu C, Qi H, Liu A. Copper sulfide nanoclusters with multi-enzyme-like activities and its application in acid phosphatase sensing based on enzymatic cascade reaction. *Talanta.* 2021 Oct 1;233:122594. doi: 10.1016/j.talanta.2021.122594. Epub 2021 Jun 12. PMID: 34215083.

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

