

乙醛脱氢酶 (ALDH) 活性检测试剂盒 (紫外分光光度法)

产品货号: BA1447

产品规格: 50管/48样

产品简介:

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。在辅酶I的存在下, 它催化乙醇在内的某些一级或二级醇、醛或酮的脱氢反应。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受到高度关注; 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。

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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

试验中所需的仪器和试剂:

紫外分光光度计、台式离心机、水浴锅、1mL石英比色皿、可调式移液枪、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体60mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体20mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×1瓶	-20℃
试剂三	液体1mL×1瓶	2-8℃
试剂四	液体2mL×1瓶	2-8℃
试剂五	液体3mL×1瓶	2-8℃

溶液的配制:

试剂二: 临用前加入6mL蒸馏水溶解, -20℃分装保存;

试剂五: 沸点低, 在使用时保持低温以保证正确的吸取量。

操作步骤 (仅供参考):

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: 按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液) 进行冰浴匀浆, 8000g 4℃离心 10min, 取上清液待测。
2. 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 万细菌或细胞加入 1mL 提取液), 冰浴超声波破碎细菌或细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 然后 10000g, 4℃, 离心 20min, 取上清置于冰上待测。
3. 液体: 直接检测。

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. 将试剂一 37℃ (哺乳动物) 或 25℃ (其他物种) 预热 15min。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

3. 操作表:

试剂名称 (μL)	空白管	测定管
样本	-	200
蒸馏水	500	300
试剂一	300	300
试剂二	100	100
试剂三	20	20
试剂四	30	30
试剂五	50	50

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 30s 时的吸光值 A1, 迅速置于 37℃ (哺乳动物) 或 25℃ (其他物种) 水浴 1min, 拿出迅速擦干测定 90s 时的吸光值 A2, 计算 ΔA 测定管 = A2 测定 - A1 测定, ΔA 空白管 = A2 空白 - A1 空白, $\Delta A = \Delta A$ 测定管 - ΔA 空白管。(空白管需做 1-2 次)

三、ALDH 酶活计算

1. 按蛋白浓度计算

酶活定义: 每毫克蛋白每分钟消耗 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ALDH 酶活 (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 804 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

2. 按样本质量计算

酶活定义: 每克样本每分钟消耗 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ALDH 酶活 (U/g 质量)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 804 \times \Delta A \div W$$

3. 按细菌或细胞数量计算

酶活定义: 每 10^4 个细胞每分钟消耗 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{ALDH 酶活 (U/10}^4 \text{cell)} &= \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量 (万个)}) \div T \\ &= 804 \times \Delta A \div \text{细胞数量 (万个)} \end{aligned}$$

4. 按液体体积计算

酶活定义: 每毫升液体每分钟消耗 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ALDH 酶活 (U/mL)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 804 \times \Delta A$$

ϵ : NADH 摩尔消光系数, $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$; d : 比色皿光径, 1cm; $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 0.001L; $V_{\text{样}}$: 反应体系中样本体积, 0.2mL; $V_{\text{样总}}$: 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; T : 反应时间: 1min; 10^9 : 单位换算系数, $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$ 。

注意事项:

- 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。
- ΔA 大于 1 时, 建议将样本稀释后再进行测定。当 ΔA 小于 0.01 时, 可以延长反应时间 (5min 或 10min) 来测定。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com