

CheKine™ 乙醛脱氢酶 (ALDH) 活性检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB3032

规格: 48 T/48 S 96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 动植物组织、细胞、血清 (浆) 或其他液体
	保质期: 4℃, 避光保存 6 个月

01 背景与原理

乙醛脱氢酶 (EC 1.2.1.10, ALDH) 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。

本试剂盒检测原理是在辅酶 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 340 nm 处的吸光值会增加, 测定 340 nm 处的吸光值变化, 可计算得出乙醛脱氢酶的活性。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	120 mL	4℃
Reagent I	12.5 mL	25 mL	4℃
Reagent II	1 mL	2 mL	4℃, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 340 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	UV 板
试剂	PBS	清洗样本用
其他	匀浆器（组织样本）、超声破碎仪、恒温箱、冰盒、 低温离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有 助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 **2-3** 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃ 保存，有刺激性气味，建议在通风橱进行实验
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃ 保存
Reagent II	即用型；使用前平衡到室温	4℃ 避光保存，有刺激性气味，建议在通风橱进行实验

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在 **-80℃** 保存 **1** 个月。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 **4 h** 内完成样品解冻。

- **动植物组织**：称取约 0.1 g 组织样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，10000 g，4℃ 离心 20 min，取上清，置冰上待测。
- **细菌或细胞样本**：收集 5×10^6 个细菌或细胞，用冷 PBS 清洗细菌或细胞，800 g 离心 2 min，弃上清液。加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴超声波破碎细菌或细胞 3 min（功率 30% 或 300 W，超声 3 s，间隔 7 s），10000 g，4℃ 离心 20 min，取上清，置冰上待测。
- **血清（浆）等液体样本**：直接测定。若溶液有浑浊则离心后取上清进行测定。

05-3 实验步骤

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 340 nm。
2. 工作液的配制：临用前配制；根据样本数量，按 Reagent I : Reagent II =200 μL:10 μL 的比例混合，充分混匀，现用现配。检测前在 37℃ 预热 10 min 以上。
3. 检测体系配制：按如下体系在 UV 板中进行检测体系配制：

试剂	测定孔 (μL)
样本上清	20
工作液	180

4. 吸光度检测：充分混匀，测定 340 nm 处 0 min 的初始吸光值 A_1 和 37℃ 孵育 30 min 后的吸光值 A_2 。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn)>进入“技术中心”>查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

$$\Delta A = A_2 - A_1$$

2. 样本 ALDH 活性计算

● 按样本质量计算

酶活定义：每 g 样品每分钟催化还原 1 nmol NAD^+ 的酶量为 1 个酶活单位。

$$ALDH (U/g) = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 107.18 \times \Delta A \div W$$

● 按细胞或细菌数量计算

酶活定义：每 10^4 个细胞每分钟催化还原 1 nmol NAD^+ 的酶量为 1 个酶活单位。

$$ALDH (U/10^4 \text{ cell}) = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times N \div V_{\text{样总}}) \div T = 107.18 \times \Delta A \div N$$

● 按液体体积计算

酶活定义：每 mL 样本每分钟催化还原 1 nmol NAD^+ 的酶量为 1 个酶活单位。

$$ALDH (U/mL) = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 107.18 \times \Delta A$$

● 按蛋白浓度数量计算

酶活定义：每 mg 蛋白每分钟催化还原 1 nmol NAD^+ 的酶量为 1 个酶活单位。

$$ALDH (U/mg \text{ prot}) = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times Cpr) \div T = 107.18 \times \Delta A \div Cpr$$

ϵ : $NADH$ 摩尔消光系数, $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$; d : 96 孔 UV 板光径, 0.5 cm; 10^9 : 单位换算系数, $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$; $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, $0.2 \text{ mL} = 2 \times 10^{-4} \text{ L}$; $V_{\text{样}}$: 反应体系中样本体积, 0.02 mL; $V_{\text{样总}}$: 加入 Extraction Buffer 体积, 1 mL; Cpr : 样本蛋白浓度, mg/mL; W : 样本质量, g; T : 反应时间, 30 min; N : 细胞或细菌数量, 以 10^4 为单位 (例如细菌数量为 5×10^6 , $N=500$)。

07 结果展示

示例-1: 取 0.149 g 玉米种子, 按照测定步骤操作, 用 96 孔 UV 板进行检测。测得 $\Delta A = A_2 - A_1 = 0.129 - 0.116 = 0.013$ 。
按样本质量计算得: $ALDH (U/g) = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 107.18 \times \Delta A \div W = 9.35 \text{ U/g}$ 。

08 FAQ

- 检测得到的样本 ΔA 过高或者过低怎么办？

如果样本 $\Delta A > 1.0$ ，需用 Extraction Buffer 适当稀释或减少提取用样本量，重新进行测定。如果样本的 $\Delta A < 0.01$ ，可适当加大样本量或适当延长反应时间（比如反应 60 min）。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1015	CheKine™ α -葡萄糖苷酶活性检测试剂盒（微量法）
KTB1121	CheKine™ 丙酮酸（PA）含量检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 乙醛脱氢酶（ALDH）活性检测流程示意图

(Abbkine 货号：KTB3032)

样本处理



血清
血浆

根据实际需求对
样本稀释或不稀
释,若溶液有浑浊
则离心后取上清



植物组织



动物组织



细胞或细菌

1 mL Extraction Buffer
冰浴匀浆

收集清洗的细胞或细菌
1 mL Extraction Buffer
冰浴超声破碎3 min (功率30%
或300 W, 超声3 s, 间隔7 s)



10000 g , 4℃离心20 min, 取上清



体系配置

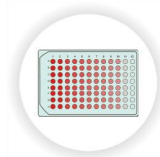
工作液:
按Reagent I : Reagent II
=200 μL:10 μL的比例混合, 充
分混匀, 现用现配。配好后在
37℃预热10 min以上。



测定孔

样本上清 20 μL
工作液 180 μL

数据检测



测定340 nm 0 min和37℃孵育30 min 后的吸光度
结果计算