

## 乙醛脱氢酶（ALDH）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AYHD6-C24	乙醛脱氢酶（ALDH）活性检测试剂盒	24T	常量法
AYHD6-C48		48T	常量法

### 一、测定意义：

乙醛脱氢酶（ALDH）是酒精代谢通路中催化乙醛氧化为乙酸的关键酶，其活性高低直接影响体内乙醛代谢效率及毒性物质清除能力。通过测定该酶活性，可评估个体酒精耐受度、肝脏解毒功能及氧化应激损伤风险，为酒精性肝病、食道癌等疾病的临床诊断、发病机制研究及药物代谢动力学分析提供重要依据，在医学检验、毒理学评价及个体化健康管理中具有关键意义。

### 二、测定原理：

乙醛脱氢酶（ALDH）催化乙醛在辅酶 I（NAD<sup>+</sup>）存在下氧化生成乙酸，同时使 NAD<sup>+</sup>还原为 NADH，NADH 在 340nm 处有特征吸光度，通过紫外分光光度计监测反应体系中 NADH 生成速率，结合 NADH 的摩尔吸光系数及反应体积等参数，可计算出乙醛脱氢酶的活性。

### 三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 10mL×1 瓶	液体 20mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	-20℃保存
<b>试剂二配制：</b> 使用前每瓶加入 9 mL 试剂一充分溶解，使用前配制，配制后-20℃可保存 1 周。			
试剂三	液体 9mL×1 瓶	液体 18mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂四	液体 0.2mL×1 支	液体 0.2mL×2 支	2~8℃保存
<b>试剂四应用液配制：</b> 用时取试剂四 10μL 加入蒸馏水 12.5mL，充分混匀，现用先配。			

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

- 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 0.1 g 组织，加入 1mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。
- 2、细菌、细胞：按照细胞数量 10<sup>4</sup> 个：提取液体积（mL）500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），5000 rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。
- 3、血清（浆）等液体：直接测定，若浑浊离心取上清。

#### 测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零。
- 2、测定前将试剂恢复至室温。
- 3、将试剂二、试剂三、试剂四按照 1：1：1 的比例配制为工作液，混合均匀，现用现配。
- 4、样本测定（在 1.5mL 离心管中依次加入下列试剂）：

试剂名称	空白管	测定管
样品（μL）	-	-
蒸馏水（μL）	200	-
标准品（μL）	-	200
工作液（μL）	900	900
充分混匀，记录 340nm 处 20s 时吸光值 A1 和 5min20s 时的吸光值 A2，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ 。 $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$ ； $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。（空白管只做 1-2 管）		

### 五、乙醛脱氢酶（ALDH）活性测定：

- 1、血清样本 ALDH 计算

**单位定义：**每毫升血清每分钟催化生成 1μmol NADH 所需的酶量为一个活力单位。

**计算公式:**  $ALDH (U/mL) = [\Delta A \times V_{反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div V_{样} \div T$   
 $= 0.884 \times \Delta A$

## 2、组织、细胞样本 ALDH 计算

### (1) 按样本蛋白浓度计算

**单位定义:** 每毫克组织蛋白每分钟催化生成  $1\mu\text{mol}$  NADH 所需的酶量为一个活力单位。

**计算公式:**  $ALDH (U/mg \text{ prot}) = [\Delta A \times V_{反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{样} \times Cpr) \div T$   
 $= 0.884 \times \Delta A \div Cpr$

### (2) 按样本鲜重计算

**单位定义:** 每克组织催化生成  $1\mu\text{mol}$  NADH 所需的酶量为一个活力单位。

**计算公式:**  $ALDH (U/g) = [\Delta A \times V_{反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{样} \div V_{样总} \times W) \div T$   
 $= 0.884 \times \Delta A \div W$

### (3) 按照细菌或细胞数量计算

**单位定义:** 每 1 百万个细菌或细胞每分钟催化生成  $1\mu\text{mol}$  NADH 所需的酶量为一个活力单位。

**计算公式:**  $ALDH (U/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \times V_{反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{样} \div V_{样总} \times 500) \div T$   
 $= 0.002 \times \Delta A$

$V_{反总}$ : 反应体系总体积,  $1.1 \times 10^{-3} \text{ L}$ ;  $\epsilon$ : NADH,  $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ;

$d$ : 比色皿光径,  $1\text{cm}$ ;  $V_{样}$ : 加入样本体积,  $0.04\text{mL}$ ;  $V_{样总}$ : 加入提

取液体积,  $1\text{mL}$ ;  $T$ : 反应时间,  $5\text{min}$ ;  $Cpr$ : 样本蛋白质浓度,  $\text{mg/mL}$ ;

$10^6$ : 单位换算系数,  $1\text{mol} = 10^6 \mu\text{mol}$ ;  $W$ : 样本质量,  $\text{g}$ ;  $500$ : 细菌或细胞总数,  $500 \text{ 万}$ 。

## 六、 注意事项:

1、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;

2、试剂使用前应充分混匀, 按顺序添加避免交叉污染;

### 【厂家信息】

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司

地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

### 【售后微信】



### 【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日