

## 乙醛脱氢酶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-M48 | 乙醛脱氢酶（ALDH）活性检测试剂盒 | 48T  | 微量法  |
| AYHD6-M96 |                    | 96T  | 微量法  |

### 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(48T)    | 试剂装量(96T)    | 保存条件   |
|--|--------------|--------------|--------|
| 提取液  | 液体 60mL×1 瓶  | 液体 110mL×1 瓶 | 2~8℃保存 |
| 试剂一  | 液体 5mL×1 瓶   | 液体 10mL×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 4 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 4mL×1 瓶   | 液体 8mL×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、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 340nm。
- 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 96 孔 UV 板中依次加入下列试剂）：

| 试剂名称  | 空白管 | 测定管 |
|---|-----|-----|
| 样品（μL）  | -   | 40  |
| 蒸馏水（μL）   | 40  | -   |
| 工作液（μL）   | 180 | 180 |
| 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:**  $ALDH (U/mL) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div V_{\text{样}} \div T$   
 $= 1.474 \times \Delta A$

## 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:**  $ALDH (U/mg \text{ prot}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{\text{样}} \times Cpr) \div T$   
 $= 1.474 \times \Delta A \div Cpr$

### (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:**  $ALDH (U/g) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T$   
 $= 1.474 \times \Delta A \div W$

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

$V_{\text{反应}}$ : 反应体系总体积,  $0.22 \times 10^{-3} \text{ L}$ ;  $\epsilon$ : NADH,  $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ;

$d$ : 比色皿光径,  $0.6 \text{ cm}$ ;  $V_{\text{样}}$ : 加入样本体积,  $0.04 \text{ mL}$ ;  $V_{\text{样总}}$ : 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 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