

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⁺) 存在下氧化生成乙酸，同时使 NAD⁺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
试剂二配制： 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
试剂四应用液配制： 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

- 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。
- 细菌、细胞：按照细胞数量 10⁴ 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。
- 血清 (浆) 等液体：直接测定，若浑浊离心取上清。

测定步骤

- 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 340nm。
- 测定前将试剂恢复至室温。
- 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 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{1 \text{ 测定}} - A_{2 \text{ 测定}}$ 。 $\Delta A_{\text{空白}} = A_{1 \text{ 空白}} - A_{2 \text{ 空白}}$ ； $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。（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: $ALDH \text{ (U/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div V_{\text{样}} \div T$

$$= 1.474 \times \Delta A$$

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: $ALDH \text{ (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}})$

$$\div T = 1.474 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

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

$$\div T = 1.474 \times \Delta A \div W$$

(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: $ALDH \text{ (U/10}^4\text{cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{\text{样}} \div$

$$V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 0.002 \times \Delta A$$

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

d : 比色皿光径, 0.6cm ; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.04mL ; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL ; T : 反应时间, 5min ; C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mg/mL ; 10^6 : 单位换算系数, $1\text{mol} = 10^6 \mu\text{mol}$; W : 样本质量, 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