

线粒体乙醛脱氢酶（ALDH2）活性检测试剂盒 （紫外分光光度法）

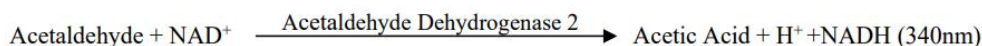
产品货号：BA2237

产品规格：50T/48S

产品简介：

线粒体乙醛脱氢酶（aldehyde dehydrogenase 2, ALDH2）属于乙醛脱氢酶蛋白家族，存在于很多组织，特别是肝脏组织内含量较高。该酶主要参与乙醇代谢过程的第二步，在线粒体内将乙醛氧化成羧酸，然后进入三羧酸循环，被彻底分解，解除乙醛对生物体的毒害作用。另外，ALDH2也可作为酯酶参与硝酸甘油的代谢途径，是硝酸甘油重要的生物活性剂。

ALDH2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ALDH2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。

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35mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×2瓶	-20℃
试剂三	液体1.2mL×1支	2-8℃
试剂四	液体1.8mL×1支	2-8℃
试剂五	液体7mL×1瓶	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前取一瓶试剂二加入3mL蒸馏水溶解，用不完的试剂-20℃分装保存4周，避免反复冻融；
2. 试剂五：沸点低，在使用时保持低温以保证正确的吸取量。用后及时封口。
3. 工作液：临用前根据样本数量按照试剂一：试剂二：试剂三：试剂四：试剂五=550μL：100μL：20μL：30μL：100μL（800μL，1T）的比例配制工作液，现用现配。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计、台式离心机、分析天平、水浴锅/恒温培养箱、1mL石英比色皿、可调式移液枪、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。

操作步骤：

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. 称取约0.1g组织或收集500万细胞，加入1mL提取液，在冰上用匀浆器或研钵进行快速匀浆（匀浆器可上下研磨30次左右）。
2. 4℃600g离心10min（如需获得纯度更高的线粒体，可将此步离心速度改为1000g）。
3. 将上清液移至另一离心管中，4℃11000g离心15min，弃上清，留沉淀。



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

4. 在沉淀中加入 400 μ L 提取液，超声波破碎（功率 200W，超声 5 秒，间隔 10 秒，重复 15 次），用于 ALDH2 活性测定，若用蛋白浓度计算，取 20 μ L 用于蛋白含量测定。

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. 工作液 37 $^{\circ}$ C 预热 20min。
3. 操作表：

试剂名称 (μ L)	空白管	测定管
样本	-	200
蒸馏水	200	-
工作液	800	800

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 1min 时的吸光值 A1，迅速置于 37 $^{\circ}$ C 水浴或培养箱反应 30min，拿出迅速擦干测定 31min 时的吸光值 A2，计算 ΔA 测定 = A2 测定 - A1 测定， ΔA 空白 = A2 空白 - A1 空白， $\Delta A = \Delta A$ 测定 - ΔA 空白。空白管只需做 1-2 次。

三、ALDH2 酶活计算

1. 按蛋白浓度计算

酶活定义：每毫克蛋白每分钟生成 1nmol 的 NADH 定义为 1 个酶活单位。

$$\text{ALDH2 活性 (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V \text{ 反总} \div (V \text{ 样} \times C_{\text{pr}}) \div T \times F = 26.795 \times \Delta A \div C_{\text{pr}} \times F$$

2. 按样本质量计算

酶活定义：每克样本每分钟生成 1nmol 的 NADH 定义为 1 个酶活单位。

$$\text{ALDH2 活性 (U/g 质量)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V \text{ 反总} \div (V \text{ 样} \times W \div V \text{ 样总}) \div T \times F = 10.718 \times \Delta A \div W \times F$$

3. 按细胞数量计算

酶活定义：每 10⁶ 个细胞每分钟生成 1nmol 的 NADH 定义为 1 个酶活单位。

$$\text{ALDH2 活性 (U/10}^6 \text{ cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V \text{ 反总} \div (V \text{ 样} \div V \text{ 样总} \times N) \div T \times F = 10.718 \times \Delta A \div N \times F$$

ϵ : NADH 摩尔消光系数, 6.22 $\times 10^3$ L/mol/cm; d: 比色皿光径, 1cm; V 反总: 反应体系总体积, 1 $\times 10^{-3}$ L; V 样: 反应体系中加入样本上清体积, 0.2mL; V 样总: 线粒体沉淀中加入提取液体积, 0.4mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL, 需自行测定; W: 样本质量, g; N: 细胞总数, 以 10⁶ 计; T: 反应时间, 30min; 10⁹: 单位换算系数, 1mol=10⁹nmol; F: 稀释倍数。

注意事项:

1. 试剂四有毒性，实验过程中，请佩戴好防护用具。
2. 由于提取液中含有一定浓度的蛋白（约 1mg/mL），所以在测定样本蛋白浓度时需要减去提取液本身的蛋白含量（单独测量）。
3. 样本 ΔA 大于 1 时，建议将样本用提取液稀释后再进行测定。当 ΔA 小于 0.01 时，可以延长反应时间（60min 或更长）来测定。计算时注意同步更改计算公式。



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