

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-F044

产品规格: 96T(40 samples)

检测仪器: 荧光酶标仪(激发波长 535 nm, 发射波长 587 nm)

Elabscience®乙醛脱氢酶(ALDH)荧光法测试盒

Aldehyde Dehydrogenase (ALDH)

Fluorometric Activity Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: biochemical@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测动物组织、细胞和血清(浆)等样本中乙醛脱氢酶(ALDH)的活力。

检测原理

酒精代谢的主要途径是肝内乙醇脱氢酶(ADH)氧化成乙醛，然后是NADH依赖的乙醛脱氢酶(ALDH)氧化成乙酸。本试剂盒检测原理为底物在乙醛脱氢酶的作用下，将NAD⁺转化为NADH，NADH在酶的作用下将荧光探针转化为荧光物质，荧光物质在535 nm处被激发，在587 nm处检测发射波长。

本试剂盒检测组织与细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司BCA试剂盒(货号E-BC-K318-M)进行测定。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	20 mL×1 瓶	-20℃ 保存6个月
试剂二 (Reagent 2)	辅酶 (Coenzyme)	粉剂×2 支	-20℃ 避光 保存6个月
试剂三 (Reagent 3)	底物 (Substrate)	0.3 mL×1 支	-20℃ 避光 保存6个月
试剂四 (Reagent 4)	显色剂 (Chromogenic Agent)	0.2 mL×1 支	-20℃ 避光 保存6个月
试剂五 (Reagent 5)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	粉剂×2 支	-20℃ 避光 保存6个月
试剂六 (Reagent 6)	标准品 (Standard)	粉剂×2 支	-20℃ 避光 保存6个月
	96孔黑色酶标板	1 板	
	96孔覆膜	2 张	
	样本位置标记表	1 张	

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同试剂盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：荧光酶标仪(激发波长 535 nm，发射波长 587 nm)

试剂准备

① 检测前，试剂平衡至室温。

② 试剂二工作液的配制：

使用前取一支试剂二加入1 mL双蒸水溶解，2-8℃可避光保存2天。

③ 反应工作液的配制：

按试剂一：试剂二工作液：试剂三体积比=177：15：0.8混匀，现配现用，按需配制，配好的工作液在6 h内使用有效。

④ 试剂五工作液的配制：

取一支试剂五加入100 μL双蒸水溶解，混匀置于冰上待用，未用完部分2-8℃可避光保存1天。

⑤ 显色工作液的配制：

按照双蒸水：试剂四：试剂五工作液=280：16：5的体积比配制，现配现用，按需配制，配好的显色工作液避光置于冰上待用，在6 h内用完。

⑥ 300 μmol/L标准品溶液的配制：

使用前取一支试剂六加入1.6 mL双蒸水充分溶解，未用完部分4℃可避光保存2天。

⑦ 3 μmol/L标准品溶液的配制：

按照300 μmol/L标准品溶液：双蒸水=1：99的体积比混匀，现配现用，按需配制。

⑧ 不同浓度标准品的稀释:

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度($\mu\text{mol/L}$)	0	0.6	0.9	1.2	1.8	2.4	2.7	3
3 $\mu\text{mol/L}$ 标准品(μL)	0	40	60	80	120	160	180	200
双蒸水(μL)	200	160	140	120	80	40	20	0

样本准备

① 样本处理

血清(浆)等液体样品: 直接测定。

组织样本: 匀浆介质为生理盐水(0.9% NaCl), 离心取上清, 留取部分上清进行蛋白浓度测定。

细胞样本: 取收集好的细胞按 1×10^6 个: 200 μL 生理盐水(0.9% NaCl) 进行匀浆, 离心取上清待测, 留取部分上清进行蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前, 需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验, 根据预实验的结果, 结合本试剂盒的线性范围: 0.06-3 $\mu\text{mol/L}$, 请参考下表稀释(仅供参考):

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%大鼠肝组织	150-160	10%小鼠肾组织	90-150
10%小鼠肝组织	150-180	10%小鼠肺组织	60-90
10%小鼠脑组织	30-40	10%小鼠脾组织	60-150
小鼠血浆	3-5	Jurkat 细胞	8-12

注: 样本稀释液为生理盐水(0.9%NaCl)或双蒸水。

实验关键点

反应工作液加入体系时注意避免气泡产生。

操作步骤

- ① 标准孔：取 20 μL 不同浓度的标准品溶液加入相应的酶标孔中。
测定孔：取 20 μL 待测样本加入测定孔中。
对照孔：取 20 μL 待测样本加入对照孔中。
- ② 向步骤①中标准孔、测定孔依次加入 140 μL 反应工作液。
向步骤①中对照孔加入 140 μL 试剂一。
- ③ 向步骤②中各孔依次加入 20 μL 显色工作液。
- ④ 振板 3 s，室温避光反应 5 min，荧光酶标仪激发波长 535 nm，发射波长 587 nm 检测各孔荧光值。

操作表

	标准孔	测定孔	对照孔
不同浓度的标准品(μL)	20	--	--
待测样本(μL)	--	20	20
反应工作液(μL)	140	140	--
试剂一(μL)	--	--	140
显色工作液(μL)	20	20	20
振板 3 s，室温避光反应 5 min，荧光酶标仪激发波长 535 nm，发射波长 587 nm 检测各孔荧光值。			

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

组织与细胞样本中 ALDH 活力计算公式:

定义: 37℃ 条件下, 每克组织或细胞蛋白每分钟水解底物的过程还原 NAD^+ 生成 $1 \mu\text{mol NADH}$ 所需要的 ALDH 酶量为一个活力单位。

$$\text{ALDH 活性} \begin{matrix} \text{(U/gprot)} \end{matrix} = (F_{\text{测}} - F_{\text{对}} - b) \div a \div T \div C_{\text{pr}} \times f$$

血清(浆)样本中 ALDH 活力计算公式:

定义: 37℃ 条件下, 每升血清(浆)每分钟水解底物的过程还原 NAD^+ 生成 $1 \mu\text{mol NADH}$ 所需要的 ALDH 酶量为一个活力单位。

$$\text{ALDH 活性} \begin{matrix} \text{(U/L)} \end{matrix} = (F_{\text{测}} - F_{\text{对}} - b) \div a \div T \times f$$

注解:

y: 标准孔荧光值-空白孔荧光值(标准品浓度为 0 时荧光值)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

$F_{\text{测}}$: 测定孔荧光值。

$F_{\text{对}}$: 对照孔荧光值。

T: 孵育反应时间, 5 min

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

C_{pr} : 待测样本的蛋白浓度

附录1 关键数据

1. 技术参数

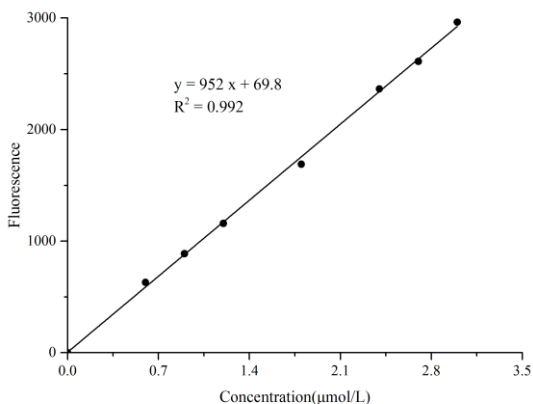
检测范围(按生成的NADH浓度)	0.06-3 μ mol/L	平均批间差	8.4 %
灵敏度(按生成的NADH浓度)	0.06 μ mol/L	平均批内差	4 %
平均回收率	100 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度的标准品加样量20 μ L，按照操作步骤进行实验，各点荧光值如下表所示：

标准品浓度 (μ mol/L)	0	0.6	0.9	1.2	1.8	2.4	2.7	3
荧光值	361	997	1225	1506	2025	2756	2963	3309
	345	968	1256	1517	2059	2680	2963	3322
平均荧光值	353	983	1241	1512	2042	2718	2963	3316
绝对荧光值	0	630	888	1159	1689	2365	2610	2963

②绘制标曲(如下图)：



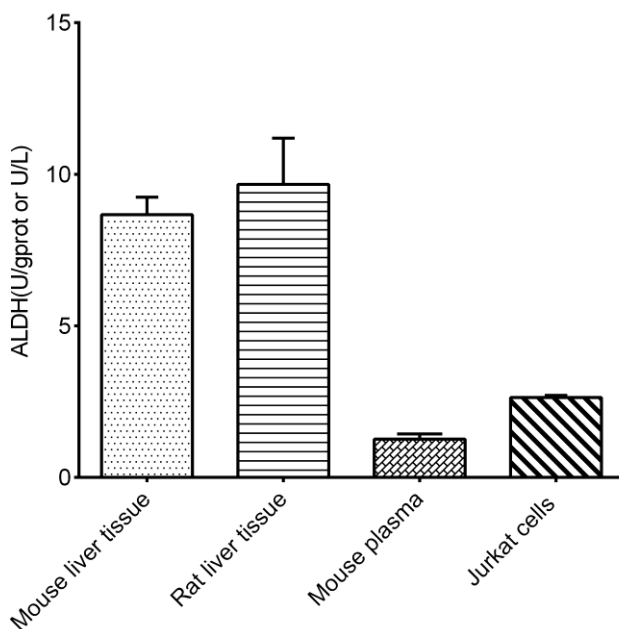
附录2 实例分析

例如检测小鼠肝组织(数据仅供参考):

取稀释180倍的10%小鼠肝组织匀浆上清液40 μL ，按操作表操作，结果如下：标准曲线： $y = 952x + 69.8$ ，平均对照荧光值为413，平均测定荧光值为1537，10%小鼠肝组织匀浆蛋白浓度为3.51 gprot/L计算结果为：

$$\text{ALDH 活力} = (1537 - 413 - 69.8) \div 952 \div 5 \div 3.51 \times 180 = 11.36 \text{ U/gprot (U/gprot)}$$

按照说明书操作，测定10%小鼠肝组织(蛋白浓度为3.51 gprot/L，稀释180倍，加样量为40 μL)、10%大鼠肝组织(蛋白浓度为11.95 gprot/L，稀释180倍，加样量为40 μL)、小鼠血浆(稀释3倍，加样量为40 μL)和Jurkat细胞(蛋白浓度为0.3 gprot/L，稀释10倍，加样量40 μL)中ALDH活力(如下图)：



声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

附录3 客户发表文献

1. Zhang X, He C, Chen Y, et al. Cyclic reactions-mediated self-supply of H₂O₂ and O₂ for cooperative chemodynamic/starvation cancer therapy[J]. *Biomaterials*, 2021, 275:120987-. IF:12.479
2. Xia H, Scholtes C, Dufour CR, et al. Insulin action and resistance are dependent on a GSK3 β -FBXW7-ERR α transcriptional axis. *Nat Commun.* 2022; 13 (1):2105. IF:14.919
3. Liu Q, Zhang T X, Zheng Y D, et al. Calixarene-Embedded Nanoparticles for Interference-Free Gene-Drug Combination Cancer Therapy[J]. *Small*, 2021, 2006223. IF:11.459
4. He C, Zhang X, Chen C, et al. A solid lipid coated calcium peroxide nanocarrier enables combined cancer chemo/chemodynamic therapy with O₂/H₂O₂ self-sufficiency[J]. *Acta Biomaterialia*, 2021, 122. IF:8.203
5. Chen L, Tao F, Zhang Y, et al. Islet-cell autoantigen 69 accelerates liver regeneration by downregulating Tgfbr1 and attenuating Tgf β signaling in mice[J]. *FEBS Letters*, 2020, 594(17). IF:6.665
6. Omar N, Frank J, Kruger J, et al. Effects of High Intakes of Fructose and Galactose, with or Without Added Fructooligosaccharides, on Metabolic Factors, Inflammation, and Gut Integrity in a Rat Model[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2021:2001133. IF:5.914
7. Wang C, Ma C, Fu K, et al. Phillygenin Attenuates Carbon Tetrachloride-Induced Liver Fibrosis via Modulating Inflammation and Gut Microbiota[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 9, 21. IF:5.81
8. Du Y Q, Zheng Y Z, Yu C X M, et al. The Mechanisms of Yu Ping Feng San in Tracking the Cisplatin-Resistance by Regulating ATP-Binding Cassette Transporter and Glutathione S-Transferase in Lung Cancer Cells[J].*Frontiers in Pharmacology*, 2021; 12: 678126. IF:5.81
9. Zeng X Peng, Wang L J, Guo L H, et al. Dasatinib ameliorates chronic pancreatitis induced by caerulein via anti- fibrotic and anti-inflammatory mechanism[J]. *Pharmacological Research*, 2019, 147, 104357. IF:5.574
10. Cao X, Liang Y, Liu R, et al. Uncovering the Pharmacological Mechanisms of Gexia-Zhuyu Formula (GXZY) in Treating Liver Cirrhosis by an Integrative Pharmacology Strategy. *Front Pharmacol.* 2022; 13:793888. IF:5.331

11. Wang Y, Xie W, Feng Y, et al. Epithelial-derived exosomes promote M2 macrophage polarization via Notch2/SOCS1 during mechanical ventilation. *Int J Mol Med.* 2022; 50 (1). IF:5.314
12. Jung D S, Son Y J, Shin J M, et al. Gymnaster Koraiensis Extract Alleviated Metabolic Syndrome Symptoms and Stimulated UCP1 -Independent Energy Consumption via AMPK Activation in White Adipose Tissue[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2020. IF:5.309
13. Ali A K, Komal A K, Almutairi S M, et al. Natural killer cell-derived IL-10 prevents liver damage during sustained murine cytomegalovirus infection[J]. *Frontiers in immunology*, 2019, 10: 2688. IF:5.085
14. Xu Y , Zhang Y , Xu Y , et al. Activation of CD137 signaling promotes macrophage apoptosis dependent on p38 MAPK pathway-mediated mitochondrial fission[J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2021 Jul;136:106003. IF:5.085
15. Naseh A, Shirin B, Maryam M, et al. Attenuation of chronic arsenic neurotoxicity via melatonin in male offspring of maternal rats exposed to arsenic during conception: Involvement of oxidative DNA damage and inflammatory signaling cascades[J]. *Life Sciences* 266 (2021) 118876. IF:5.037
16. Ahmed A E, Alshehri A, Al-Kahtani M A, et al. Vitamin E and selenium administration synergistically mitigates ivermectin and doramectin-induced testicular dysfunction in male Wistar albino rats[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2020, 124: 109841. IF:4.545
17. Su S, Tian H, Jia X, et al. Mechanistic insights into the effects of SREBP1c on hepatic stellate cell and liver fibrosis[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2020. IF:4.486
18. Wang L J, He L, Hao L, et al. Isoliquiritigenin ameliorates caerulein-induced chronic pancreatitis by inhibiting the activation of PSCs and pancreatic infiltration of macrophages[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2020. IF:4.486
19. Dejan Lazić, Andreas Scheurer, Dušan Čočić, et al. New bis-pyrazolopyridine ruthenium(III) complex as a potential anticancer drug: In vitro and in vivo activity in murine colon cancer[J]. *Dalton Transactions*, 2021 Jun; 50(22):7686-7704. IF:4.39
20. Li X, Lv Z, Chen J, et al. *Bacillus amyloliquefaciens* B10 can alleviate liver apoptosis and oxidative stress induced by aflatoxin B1[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2021, 151:112124. IF:4.06
21. Amany Abdel-Rahman Mohamed , Safaa I. Khater , Ahmed Hamed Arisha , et al.

- Chitosan-stabilized selenium nanoparticles alleviate cardio-hepatic damage in type 2 diabetes mellitus model via regulation of caspase, Bax/Bcl-2, and Fas/FasL-pathway[J]. *Gene*, 2020, 768(7):145288. IF:3.688
22. Zhang S, Jiang L, Hu H, et al. Pretreatment of exosomes derived from hUCMSCs with TNF- α ameliorates acute liver failure by inhibiting the activation of NLRP3 in macrophage[J]. *Life Sciences*, 2020, 246: 117401. IF:3.647
 23. Yu H, Zhang L, Chen P, et al. Dietary bile acids enhance growth, and alleviate hepatic fibrosis induced by a high starch diet via AKT/FOXO1 and cAMP/AMPK/SREBP1 pathway in *Micropterus salmoides*[J]. *Frontiers in Physiology*, 2019, 10. IF:3.367
 24. Sohini Sen, Shaunak Ghosh, Sayantan De, et al. Immunomodulatory and antimicrobial non-mulberry *Antheraea mylitta* silk fibroin accelerates in vitro fibroblast repair and regeneration by protecting oxidative stress[J]. *RSC Advances*, 2021 May; 11(31):19265-19282. IF:3.361
 25. Li Jianda, Yuan Chen, Liu Peng et al. Red blood cells serve as a vehicle for PEDV transmission.[J]. *Vet Microbiol*, 2021, 257: 109081. IF:3.293
 26. Chen L, Tao F, Zhang Y, et al. Islet-cell autoantigen 69 accelerates liver regeneration by downregulating Tgfb1 and attenuating Tgf β signaling in mice[J]. *FEBS Letters*, 2020. IF:3.057
 27. Cui Y, Wang Y, Liu G. Protective Effect of Barbaloin in a Rat Model of Myocardial Ischemia Reperfusion Injury Through the Regulation of the CNPY2?PERK Pathway[J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2019. IF:2.928
 28. Sun Yan-Chun, Han Shi-Cheng, Yao Ming-Zhu, et al. High-throughput metabolomics method based on liquid chromatography-mass spectrometry: Insights into the underlying mechanisms of salinity-alkalinity exposure-induced metabolites changes in *Barbus capito*[J]. *Journal of Separation Science*, 2021 Jan; 44(2):497-512. IF:2.878
 29. Mustafa H N, Hegazy G A, El Awdan S A, et al. Liver ischemia/reperfusion injury, a setting in which the functional mass is reduced and the role of PDE5 inhibitor[J]. *Eur. J. Anat*, 2019, 23(5): 325-332. IF:2.638
 30. Chen L, Ma K, Fan H, et al. Exogenous hydrogen sulfide protects against hepatic ischemia/reperfusion injury by inhibiting endoplasmic reticulum stress and cell apoptosis.[J]. *Spandidos Publications*, 2021(2). IF:2.447