



乙醛脱氢酶活性检测试剂盒(WST-8法)

产品编号	产品名称	包装
S0568S	乙醛脱氢酶活性检测试剂盒(WST-8法)	100次

产品简介:

- 碧云天研发的乙醛脱氢酶活性检测试剂盒(WST-8法) (Acetaldehyde Dehydrogenase Activity Assay Kit with WST-8), 简称ALDH Activity Assay Kit with WST-8、ALDH Assay Kit with WST-8或醛脱氢酶活性检测试剂盒(Aldehyde Dehydrogenase Activity Assay Kit), 是一种基于WST-8的显色反应, 利用吸光度检测, 简单、快速、高灵敏、高特异性地对血清、血浆等生物体液、组织、细胞、细菌以及组织或细胞培养上清等样品中乙醛脱氢酶活性进行检测的试剂盒。
- 醛脱氢酶(Aldehyde dehydrogenase, ALDH)是一组催化醛氧化的酶, 有时也被称为乙醛脱氢酶, 迄今为止, 已在人类基因组中鉴定出19个ALDH基因, 其中三种密切相关的脱氢酶与乙醛的代谢最相关: ALDH1A1、ALDH1B1和ALDH2, 这些基因参与多种生物过程, 包括外源性醛和内源性醛的解毒[1, 2]。根据流行病学研究表明, ALDH2在心血管疾病中发挥关键作用。ALDH2活性增加可以增强细胞对反应性醛的解毒能力来保护心脏, 通过调节ALDH2带来了治疗心血管和其它ALDH2相关疾病的可能性[3]。此外, 肝中的乙醇脱氢酶负责将乙醇氧化为乙醛, 乙醛进一步在乙醛脱氢酶催化下转变为无害的乙酸, 因此ALDH2在酒精氧化过程中通过催化乙醛转变为乙酸, 从而在维持血液和组织中低水平的乙醛中发挥着重要作用[4]。
- 本试剂盒的检测原理请参考图1。在乙醛脱氢酶(Aldehyde dehydrogenase, ALDH)的作用下, 乙醛(Acetaldehyde)被氧化生成乙酸(Acetic acid), 在这一反应过程中 NAD^+ 被还原为NADH; 生成的NADH在电子耦合试剂(Electron mediator)的作用下将WST-8还原生成橙黄色的Formazan, 在450nm左右有最大吸收峰。反应体系中Formazan的生成量与样品中乙醛脱氢酶的活性成正比。

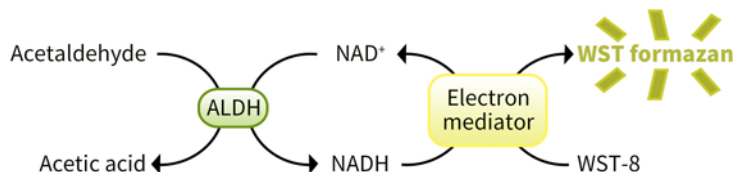


图1. 碧云天乙醛脱氢酶活性检测试剂盒(WST-8法) (S0568)检测原理图。

- **本试剂盒检测灵敏度高, 线性范围宽, 样品用量少。**本试剂盒在样品体积为20 μl 时, 可以检测活性低至6.6 μU 的乙醛脱氢酶, 在0.33-66.67mU/ml活性范围内有良好的线性关系。本试剂盒提供了乙醛脱氢酶作用产物NADH的标准溶液, 可以通过绘制标准曲线(图2), 从而计算出样品中的乙醛脱氢酶活性。

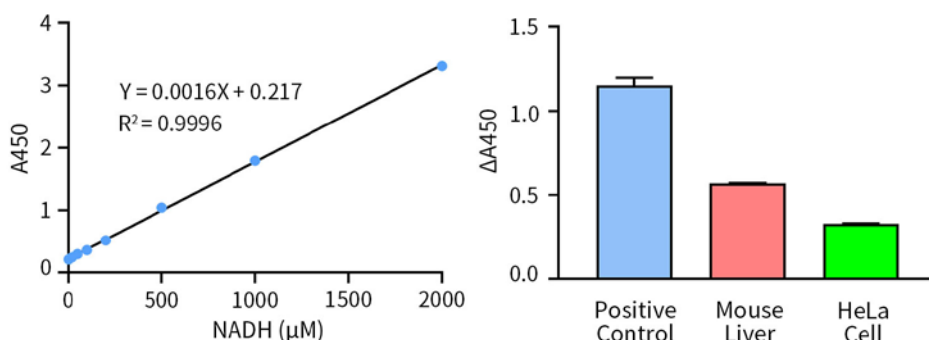


图2. 碧云天乙醛脱氢酶活性检测试剂盒(WST-8法) (S0568)检测NADH标准品的标准曲线及阳性对照、小鼠肝脏和HeLa细胞样品的检测效果图。左图, 20 μl 用ALDH Assay Buffer稀释的不同浓度的NADH标准品, 加入80 μl ALDH反应工作液并混匀后, 25 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育30分钟, 测定A450, 本试剂盒在10-2000 μM 浓度范围内有良好的线性关系。右图, 20 μl 用ALDH Assay Buffer稀释后的阳性对照(ALDH Positive Control)、小鼠肝脏和HeLa细胞裂解样品, 加入80 μl ALDH反应工作液并混匀后, 立即测定A450, 25 $^{\circ}\text{C}$ 继续孵育30分钟, 再次测定A450, 本试剂盒检测阳性对照(Positive Control)、70 μg 蛋白量小鼠肝脏(Mouse Liver)裂解样品和14 μg HeLa细胞(HeLa Cell)裂解样品在反应30分钟内的信号变化值如上图所示。实际检测数据会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- **本试剂盒应用范围广, 检测速度快。**本试剂盒可用于小鼠、大鼠、人等的血清、血浆等生物体液, 细胞培养上清、组织或细胞及

细菌等的检测。本试剂盒不仅适合少量样品的检测，也非常适合高通量筛选(High-throughput screening)的自动化操作系统。整个检测过程约30分钟即可完成。

- **本试剂盒提供的检测裂解液有一定的通用性。**使用本试剂盒中的BeyoLysis™ Buffer H for Metabolic Assay裂解获得的细胞或组织样品，也可以用于碧云天生产的其它代谢类试剂盒中同样使用BeyoLysis™ Buffer H for Metabolic Assay进行裂解的样品检测，通用性强。
- 按照使用说明操作，用于96孔板检测时，本试剂盒小包装可以进行100次检测。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
S0568S-1	BeyoLysis™ Buffer H for Metabolic Assay	15ml
S0568S-2	ALDH Assay Buffer	15ml
S0568S-3	Substrate A	500μl
S0568S-4	WST-8	200μl
S0568S-5	Substrate B	200μl
S0568S-6	ALDH Positive Control (20X)	20μl
S0568S-7	NADH Standard	5mg
—	说明书	1份

保存条件：

-20℃保存，一年有效。其中WST-8、Substrate B和NADH Standard须避光保存。NADH Standard配制成溶液后，须适当分装后-80℃保存。

注意事项：

- 本试剂盒采用了乙醛作为待测乙醛脱氢酶的底物，因此可以特异地检测乙醛脱氢酶的活性而不会检测其它的醛脱氢酶活性。但由于很多其它醛脱氢酶也可以以乙醛为底物，所以本试剂盒检测的是所有以乙醛为底物的醛脱氢酶的总体的乙醛脱氢酶活性。不同的醛脱氢酶对于不同的醛的反应活性很可能会有所不同。
- Substrate B具有一定的挥发性，使用后须及时旋紧管盖。
- ALDH Assay Buffer和Substrate A需要完全解冻并平衡至室温后再使用，否则会影响检测结果。其它溶液使用时应在冰上进行。
- NADH不太稳定，配制成溶液后，须适当分装后于-80℃保存，并尽快使用。如果发现标准曲线不理想，很有可能是标准品NADH发生了降解。
- 血清、血浆等样品如果在4℃保存，保存的时间不得超过2周，否则会影响检测结果的准确性。通常血清样品宜在-20℃保存，-80℃保存更佳。
- Substrate B对人体有害，操作时请小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 样品的准备。

- a. **血液样品的准备：**对于血清样品，将全血在常温如25℃下放置30分钟-2小时，不要剧烈摇晃以免溶血，待全血自然凝固并析出血清后，4℃约1000-2000×g离心10分钟，取黄色上清即得血清，注意不要吸取白色或淡黄色沉淀；对于血浆样品，将全血用肝素或者EDTA进行抗凝，4℃约1000-2000×g离心10分钟，取黄色或淡黄色上清即得血浆，注意不要吸取白色沉淀。血清和血浆都需置于冰上，如果不能立即检测，也可以分装并短期保存于-20℃或-80℃。对于冻存的样品，在检测前解冻后冰浴存放备用，使用前必须混匀。
- b. **细胞或组织样品的准备：**对于培养的贴壁细胞，PBS (C0221A)洗涤一次并吸净残留液体。对于培养的悬浮细胞，先适当离心(如100-500×g，5分钟)收集细胞到离心管内，弃上清并吸净残留液体。按照每100万细胞加入100-200μl BeyoLysis™ Buffer H for Metabolic Assay的比例加入裂解液，使用TissueMaster™高通量组织研磨仪(1.5/2ml×48) (E6618)、TissueMaster™手持式组织研磨仪(E6600/E6607)或玻璃匀浆器在约4℃或冰浴等低温条件下进行匀浆。对于贴壁细胞，使用细胞刮或细胞铲，刮下细胞后再进行匀浆。4℃约12,000×g离心3-5分钟，取上清用于后续检测。对于组织样品，按照每10mg组织加入100μl BeyoLysis™ Buffer H for Metabolic Assay的比例，使用TissueMaster™高通量组织研磨仪(1.5/2ml×48) (E6618)、TissueMaster™手持式组织研磨仪(E6600/E6607)或玻璃匀浆器在约4℃或冰浴等低温条件下进行匀浆。4℃约12,000×g离心3-5分钟，取上清用于后续检测。以上所有操作均需在4℃或冰上操作。制备好的细胞或组织样品如果不能立即检测，可以-20℃或-80℃冻存。
- c. **细菌样品的准备：**取1ml OD600为0.5-2.0的菌液，5000×g 4℃离心10分钟，弃上清。用100-200μl BeyoLysis™ Buffer H for Metabolic Assay重悬细胞，可短暂涡旋混合以充分重悬。使用TissueMaster™高通量组织研磨仪(1.5/2ml×48) (E6618)、TissueMaster™手持式组织研磨仪(E6600/E6607)或玻璃匀浆器在约4℃或冰浴等低温条件下进行匀浆。12,000-16,000×g (16,000×g更佳) 4℃离心5分钟。小心吸取上清用于后继检测。制备好的细菌样品如果不能立即检测，可以-20℃或-80℃冻存。
- d. **细胞培养上清样品的准备：**对于贴壁细胞，直接取培养液；对于悬浮细胞，离心取培养液。

注：对于细胞、组织、细菌等需要裂解的样品的准备，也可以用其它合适的裂解液进行裂解，但不同裂解液制备的样品的测定效果可能存在一定的差异，甚至有些裂解液可能会抑制酶活性。

2. 试剂盒的准备。

- a. 融解ALDH Assay Buffer，平衡至室温后混匀备用。其它试剂存放于冰浴备用，使用完毕后宜立即按照试剂盒要求的条件保存。
- b. 20mM NADH标准溶液的配制：在本试剂盒提供的5mg NADH中加入352.4μl ALDH Assay Buffer，充分溶解并混匀，即为20mM的NADH标准溶液。除待用部分外，其余NADH标准溶液适当分装后-80℃避光保存。
- c. **ALDH反应工作液(Working Solution)的配制**：按照每个反应80μl的体积配制适量的ALDH反应工作液。均匀混合71μl ALDH Assay Buffer、5μl Substrate A、2μl WST-8、2μl Substrate B，即可配制成80μl ALDH反应工作液。根据待检测样品(包括标准品)的数量，配制适量的ALDH反应工作液。具体配制方法参考下表。ALDH反应工作液须现配现用。

Samples	1	10	20	50
ALDH Assay Buffer (μl)	71	710	1420	3550
Substrate A (μl)	5	50	100	250
WST-8 (μl)	2	20	40	100
Substrate B (μl)	2	20	40	100
Working Solution (μl)	80	800	1600	4000

注1：由于酶溶液的用量较少且易沉降，必须注意在使用前先轻轻离心一下，然后适当混匀后再使用。

注2：NADH的存在会对乙醛脱氢酶的检测产生干扰。如果样品含有NADH，需同时设置样品背景对照孔，加入不含Substrate B的ALDH Working Solution，即配制ALDH Working Solution时2μl Substrate B用ALDH Assay Buffer替代。计算时样品孔的读数值需要减去样品背景对照孔的读数。

3. 样品测定。

- a. NADH标准曲线设置。
取10μl NADH Standard (20mM)，加入90μl ALDH Assay Buffer，混匀，配制成浓度为2mM的NADH标准品。分别取2mM的NADH标准品0、0.2、0.5、1、2、5、10、20μl加入96孔板的标准品孔中，并相应地用ALDH Assay Buffer补足至20μl，此时，标准曲线的浓度分别为0、20、50、100、200、500、1000、2000μM。
- b. 阳性对照的设置：取适量体积的ALDH Positive Control (20X)，按照1:19的比例加入ALDH Assay Buffer将其稀释20倍，然后取20μl加入96孔板作为阳性样品。例如取阳性对照2μl，加入ALDH Assay Buffer 38μl，混匀后取20μl加入96孔板作为阳性样品。
- c. 取1-20μl样品或稀释后的样品至96孔板样品孔中，并相应地加入ALDH Assay Buffer至样品孔中，补足至20μl。同时设置仅含ALDH Assay Buffer的孔为空白对照。

注1：为确保样品数值在标准曲线范围内，建议进行预实验将样品设置多个稀释倍数，以确定样品中乙醛脱氢酶的大致活性，如果数值不在标准曲线范围内，请调整样品的稀释倍数或者样品的量。样品总稀释倍数记为n (例如本步骤中对样品进行了5倍稀释，加入的‘稀释后的样品’为10μl，则n=5×20/10=10)。

注2：对于血清、组织裂解液上清等复杂样品，建议将适当样品设置多个稀释倍数进行预实验，在适当的稀释倍数时，样品的信号值和样品中的蛋白量通常会呈现出良好的线性关系。再根据预实验的结果，选取适宜的稀释倍数用于后续的测定，否则即使信号值在标准曲线的线性范围内，也可能无法得到理想的检测结果。

- d. 各孔加入ALDH反应工作液80μl，混匀。
- e. 立即使用适当的酶标仪或微量紫外分光光度计测定A450，此时记录为0分钟读值A₁。
- f. 25℃反应10-30分钟，反应时间记为T，测定A450，记为A₂。信号的增强取决于ALDH催化产生的NADH量，ΔA=A₂-A₁。
注：为取得最佳的检测效果，反应时间可以根据待测样品中的ALDH活性进行调整，但是必须确保读数在标准曲线范围内。对于ALDH活性较高的样品，建议测定总时间为20分钟或30分钟，对应的测定间隔时间设为2分钟或5分钟；对于ALDH活性较低的样品，可以延长测定总时间为1至2小时，对应的测定间隔时间设为10或20分钟。也可以连续测定30分钟，每隔1或2分钟测定1次，最后取呈线性的时间点前的数据用于分析和计算。
- g. 建立标准曲线，并计算样品中乙醛脱氢酶的活性(A)，如果样品的背景对照信号比较高，样品的信号值应减去样品背景对照的信号值。NADH标准曲线可以参考图2，在10-2000μM浓度范围内有良好的线性关系。乙醛脱氢酶活性的计算公式如下：

$$C(U/L) = A \times n / T$$

注：A为步骤3g根据标准曲线确定的NADH浓度(μM)；

n为步骤3c样品总稀释倍数；

T为步骤3f的反应时间(min)。

乙醛脱氢酶活性单位的定义：在pH8.0、25℃条件下，一个单位每分钟可以催化生成1.0μmole NADH。

参考文献：

1. Jackson B, Brocker C, Thompson DC, Black W, Vasiliou K, et al. Hum Genomics. 2011. 5(4):283-303.
2. Marchitti SA, Brocker C, Stagos D, Vasiliou V. Expert Opin Drug Metab Toxicol. 2008. 4(6):697-720.
3. Chen CH, Sun L, Mochly-Rosen D. Cardiovasc Res. 2010. 88(1):51-7.
4. Edenberg HJ, McClintick JN. Alcohol Clin Exp Res. 2018. 42(12):2281-97.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
C0016/C0017	乳酸脱氢酶细胞毒性检测试剂盒	100次/500次
C0018	乳酸脱氢酶细胞毒性检测试剂盒(WST-8法)	100次/500次
C0019	乳酸脱氢酶释放检测试剂盒(WST-8法)	100次/500次
S0110S	黄嘌呤氧化酶活性检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0111S	黄嘌呤氧化酶抑制剂筛选试剂盒(WST-8法)	100次
S0112	Amplex Red黄嘌呤氧化酶活性检测试剂盒	100次/500次
S0113S	Amplex Red黄嘌呤氧化酶抑制剂筛选试剂盒	100次
S0114S	黄嘌呤/次黄嘌呤检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0183S	果糖-6-磷酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0185	G6P检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0187S	磷酸葡萄糖异构酶活性检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0189	G6PDH活性检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0201	葡萄糖检测试剂盒(O-toluidine法)	200次/1000次
S0202	葡萄糖检测试剂盒(GOD/POD显色法)	100次/500次
S0204S	D-乳酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0208S	L-乳酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0211	Amplex Red胆固醇与胆固醇酯检测试剂盒	100次/500次
S0215	Amplex Red游离脂肪酸检测试剂盒	100次/500次
S0219	Amplex Red甘油三酯检测试剂盒	100次/500次
S0223	Amplex Red甘油检测试剂盒	100次/500次
S0227S	Amplex Red L-乳酸检测试剂盒	100次
S0231S	Amplex Red尿酸与尿酸酶检测试剂盒	100次
S0235S	Amplex Red磷酸盐检测试剂盒	100次
S0239S	Amplex Red乙醇检测试剂盒	100次
S0240	乙醇检测试剂盒(WST-8法)	100次/500次
S0241	乙醇脱氢酶活性检测试剂盒(WST-8法)	100次/500次
S0243	Amplex Red黄嘌呤/次黄嘌呤检测试剂盒	100次/500次
S0247S	Amplex Red谷氨酸与谷氨酸氧化酶检测试剂盒	100次
S0251S	Amplex Red过氧化氢与过氧化物酶检测试剂盒	100次
S0255S	Amplex Red过氧化氢酶检测试剂盒	100次
S0259S	Amplex Red单胺氧化酶检测试剂盒	100次
S0263S	Amplex Red鞘磷脂酶检测试剂盒	100次
S0267S	Amplex Red胆碱与乙酰胆碱检测试剂盒	100次
S0271S	Amplex Red乙酰胆碱酯酶检测试剂盒	100次
S0275S	Amplex Red磷脂酰胆碱检测试剂盒	100次
S0279S	Amplex Red磷脂酶D检测试剂盒	100次
S0283S	Amplex Red肌酸检测试剂盒	100次
S0287S	Amplex Red肌酸激酶检测试剂盒	100次
S0291S	Amplex Red肌酐检测试剂盒	100次
S0295S	Amplex Red肌氨酸检测试剂盒	100次
S0299S	Amplex Red丙酮酸检测试剂盒	100次
S0303S	Amplex Red丙酮酸激酶检测试剂盒	100次
S0307S	Amplex Red ADP检测试剂盒	100次
S0311S	Amplex Red磷酸烯醇式丙酮酸检测试剂盒	100次
S0315S	Amplex Red丙氨酸检测试剂盒	100次
S0319S	Amplex Red丙氨酸转氨酶检测试剂盒	100次
S0323S	Amplex Red α -酮戊二酸检测试剂盒	100次
S0327S	Amplex Red天冬氨酸检测试剂盒	100次
S0331S	Amplex Red天冬氨酸氨基转移酶检测试剂盒	100次
S0335S	Amplex Red柠檬酸检测试剂盒	100次
S0339S	Amplex Red草酰乙酸检测试剂盒	100次

S0343S	Amplex Red葡萄糖检测试剂盒	100次
S0347S	Amplex Red葡萄糖氧化酶检测试剂盒	100次
S0351S	Amplex Red果糖检测试剂盒	100次
S0355S	Amplex Red乳糖检测试剂盒	100次
S0359S	Amplex Red半乳糖与乳糖检测试剂盒	100次
S0363S	Amplex Red半乳糖与半乳糖氧化酶检测试剂盒	100次
S0367S	Amplex Red麦芽糖检测试剂盒	100次
S0371S	Amplex Red麦芽糖与葡萄糖检测试剂盒	100次
S0375S	Amplex Red糖原检测试剂盒	100次
S0379S	Amplex Red磷酸果糖激酶检测试剂盒	100次
S0383S	Amplex Red乙酰辅酶A检测试剂盒	100次
S0387S	Amplex Red辅酶A检测试剂盒	100次
S0391S	Amplex Red乙酰辅酶A合成酶检测试剂盒	100次
S0511S	L-苹果酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0514S	苹果酸脱氢酶活性检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0517S	延胡索酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0520S	延胡索酸酶活性检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0523S	异柠檬酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0526S	异柠檬酸脱氢酶活性检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0529S	Amplex Red琥珀酸检测试剂盒	100次
S0530S	琥珀酸脱氢酶活性检测试剂盒(显色法)	100次
S0532S	Amplex Red琥珀酰辅酶A合成酶检测试剂盒	100次
S0535S	支链氨基酸检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0538S	N-乙酰氨基葡萄糖苷酶活性检测试剂盒(显色法)	100次
S0540S	酪氨酸检测试剂盒(显色法)	100次
S0542S	酪氨酸酶活性检测试剂盒(显色法)	100次
S0545S	酪氨酸酶抑制剂筛选试剂盒(显色法)	100次
S0547S	髓过氧化物酶活性检测试剂盒(显色法)	100次
S0548S	Amplex Red髓过氧化物酶活性检测试剂盒	100次
S0550S	Amplex Red髓过氧化物酶抑制剂筛选试剂盒	100次
S0554	葡萄糖摄取检测试剂盒(WST-8法)	100次/500次
S0556	葡萄糖摄取检测试剂盒(DTNB法)	100次/500次
S0561	葡萄糖摄取荧光检测试剂盒(2-NBDG)	10-100次/50-500次
S0565S	乙醛检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0568S	乙醛脱氢酶活性检测试剂盒(WST-8法)	100次
S0571S	多酚含量检测试剂盒(显色法)	100次
S0574S	尿素检测试剂盒(显色法)	100次
S0577S	尿素酶活性检测试剂盒(显色法)	100次
P0321	碱性磷酸酶检测试剂盒	100次/500次
P0322	碱性磷酸酶检测试剂盒(荧光法)	100次/500次
P0326	酸性磷酸酶检测试剂盒	120次
P0327S	酸性磷酸酶检测试剂盒(荧光法)	100次
P0329	胎盘碱性磷酸酶检测试剂盒	100次
P0332	抗酒石酸酸性磷酸酶检测试剂盒	120次
P0335	抗氟离子酸性磷酸酶检测试剂盒	120次
P0392S	D-乳酸脱氢酶检测试剂盒(WST-8法)	100次
P0393S	L-乳酸脱氢酶检测试剂盒(WST-8法)	100次
P0395S	总乳酸脱氢酶检测试剂盒(WST-8法)	100次
P0405S	α -淀粉酶活性检测试剂盒(显色法)	100次
P0407S	糖化酶活性检测试剂盒(显色法)	100次
P0421S	细胞色素C氧化酶活性检测试剂盒(显色法)	100次

Version 2024.12.19