

乙醛含量试剂盒说明书

(货号: BP10233W 微板法 48 样 有效期: 3 个月)

一、指标介绍:

乙醛在许多代谢过程中产生, 出现在所有生物体中, 本公司提供一种简单, 快速检测乙醛的方法。在这个测定中, 乙醛被 ALDH 氧化产生 NADH, 进一步通过检测 NADH 在 340nm 的上升量计算出样本中乙醛含量。

二、试剂盒的组成和配制:

试剂组分	试剂规格	存放温度	
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉体 1 支	4℃保存	1. 开盖前注意使粉体落入底部(可手动甩一甩); 2. 加入 0.6mL 蒸馏水溶解备用; 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。
试剂二	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 1 支	-20℃保存	1. 临用前 8000g 4° C 离心 2min 使试剂落入管底(可手动甩一甩); 2. 加入 0.55mL 蒸馏水, 可 -20℃分装保存, 禁止反复冻融。

三、实验器材:

研钵(匀浆机)、冰盒(制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅(烘箱、培养箱、金属浴)、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水(去离子水、超纯水均可)。

四、指标测定:

建议先选取 1-3 个差异大的样本(例如不同类型或分组)进行预实验, 熟悉操作流程, 根据预实验结果确定或调整样本浓度, 以防造成样本或试剂不必要的浪费!

1、样本提取:

① 组织样本

称取约 0.1g 组织(水分含量高的样本可取约 0.5g), 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆。12000rpm, 4℃离心 10min, 取上清置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量(g): 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例进行提取

② 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液, 在 4℃或冰浴进行匀浆(或使用各类常见电动匀浆器)。4℃约 12,000rpm 离心 10min, 取上清作为待测样品。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量(10^4): 提取液(mL)为 500~1000:1 的比例进行提取。

③ 液体样本: 澄清的液体可直接检测, 若浑浊可离心后取上清检测。

2、检测步骤:

① 酶标仪预热 30 min 以上, 调节波长到 340nm。

② 所有试剂解冻至室温(25℃)或水浴锅(25℃)孵育 15-20min。

③ 依次在 96 孔板中加入:

试剂组分 (μL)	测定管
样本	20
试剂一	10
试剂二	160
混匀, 室温 (25°C) 孵育 5min, 于 340nm 处读取吸光值 A1	
试剂三	10
混匀, 室温 (25°C) 反应 10min, 于 340nm 处读取吸光值 A2, $\Delta A = A2 - A1$ 。	

【注】若 ΔA 的值在零附近徘徊, 可以增加样本量 $V1$ (如, 增至 40μL, 则试剂二相应减少) 或样本提取的时候, 增加样本质量 W , 则改变后的 $V1$ 或 W 需代入计算公式重新计算。

五、结果计算:

1、按照样品质量计算:

$$\text{乙醛含量}(\mu\text{g/g 鲜重}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^6] \div (W \times V1 \div V) = 141.64 \times \Delta A \div W$$

2、按细胞数量计算:

$$\text{乙醛含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^6] \div (500 \times V1 \div V) = 141.64 \times \Delta A \div 500$$

3、按照液体体积计算:

$$\text{乙醛含量}(\mu\text{g/mL}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^6] \div V1 = 141.64 \times \Delta A$$

4、按照蛋白浓度计算:

$$\text{乙醛含量}(\mu\text{g/mg prot}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^6] \div (Cpr \times V1 \div V) = 141.64 \times \Delta A \div Cpr$$

ϵ ---NADH 摩尔消光系数, $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$; d ---96 孔板光径, 0.5cm;

V ---加入提取液体积, 1 mL;

$V1$ ---加入反应体系中样本体积, 0.02mL;

$V2$ ---反应总体积, $2 \times 10^{-4} \text{ L}$;

Mr ---乙醛分子量, 44.05;

W ---样本质量, g;

500---细胞数量, 万;

Cpr ---蛋白浓度 (mg/mL) ; 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。