

乙醛检测试剂盒说明书

(货号: PB1188W48 微量法)

有效期: 3 个月

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

检测原理:

乙醛在许多代谢过程中产生, 出现在所有生物体中。底物在乙醛脱氢酶的作用下, 将 NAD^+ 转化为 NADH , NADH 在电子耦合剂的作用下使 WST-8 显橙黄色, 通过测定 450 nm 下吸光值变化可测得乙醛脱氢酶活性。

需自备的仪器和用品:

酶标仪、水浴锅、离心机、可调式移液器、96 孔板、蒸馏水

试剂的组成和配制:

试剂一: 液体 20ml \times 1 瓶, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存;

试剂二: 液体 3ml \times 1 瓶, -20 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存;

试剂三: 液体 60 μl \times 1 支, -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存; 每支使用前加入 1140 μl 试剂一, 混匀后使用。

试剂四: 液体 2ml \times 1 瓶, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存;

标准品: 液体 1ml \times 1 支, 0.5 $\mu\text{mol/ml}$ 标准品溶液, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

样本制备:

- ① 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 蒸馏水, 进行冰浴匀浆, 12000rpm, 室温离心 10min, 取上清液待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 5~10: 1 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 蒸馏水, 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 或冰浴进行匀浆。4 $^{\circ}\text{C}$ 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 液体样品: 澄清的液体样本直接检测, 若浑浊则离心后取上清液检测。

测定步骤:

- 1、酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 450nm。
- 2、工作液配置: 试剂四: 试剂二: 试剂一 (0.5: 1: 5) 的比例混合, 根据用量现用现配。
- 3、标准曲线的制备:

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度($\mu\text{mol/mL}$)	0	0.1	0.15	0.2	0.3	0.4	0.45	0.5
0.5 $\mu\text{mol/mL}$ 标准品(μL)	0	40	60	80	120	160	180	200
蒸馏水(μL)	200	160	140	120	80	40	20	0

4、加样表：在 96 孔板中依次加入

试剂 (μL)	标准管	测定管	对照管
样本	—	40	40
标准品	40	—	—
工作液	150	150	150
试剂三	20	20	—
试剂一	—	—	20

37℃避光孵育 10min，于 450nm 处波长处读取吸光度，分别记为 A 测定管，A 标准管，A 对照管，计算 ΔA 测定=A 测定管-A 对照管；
 ΔA 标准=A 标准管-A 标准管 (0 $\mu\text{mol/ml}$)。

乙醛含量计算：

1、标准曲线的绘制以各标准溶液浓度为 x 轴，以其对应的吸光值 (ΔA 标准) 为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入公式中得到 x ($\mu\text{mol/ml}$)。

2、乙醛含量计算

(1) 按照液体体积计算

$$\text{乙醛含量} (\mu\text{mol/ml}) = x = (\Delta A \text{ 测定} - b) \div k \times f$$

(2) 按照样品质量计算：

$$\text{乙醛含量} (\mu\text{mol/g 鲜重}) = x \times V \text{ 样总} \div W = (\Delta A \text{ 测定} - b) \div k \times V \text{ 样总} \div W \times f$$

(3) 按细胞数量计算：

$$\text{乙醛含量} (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = x \times V \text{ 样总} \div 500 = (\Delta A \text{ 测定} - b) \div k \times V \text{ 样总} \div 500 \times f$$

(4) 按照样本蛋白浓度计算

$$\text{乙醛含量} (\mu\text{mol/mg prot}) = x \div Cpr = (\Delta A \text{ 测定} - b) \div k \div Cpr \times f$$

W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL，蛋白浓度需自行测定；V 样总：加入的提取液体积，1mL；f：样本加入检测体系前的稀释倍数；500：细胞、细菌数量，万。

注意事项：

- 1、加入反应工作液后，酶标板需要避光。
- 2、反应工作液需在标准品和样品加入板孔后再配制。



Perseebio
谱析生物

专注试剂盒研发生产

本试剂盒尽供科研使用
