

乙醛含量试剂盒说明书

(货号: ADS-W-FM014-100 微板法 48 样)

一、产品简介:

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:

试剂名称	规格	保存要求	
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉体 1 支	4℃保存	临用前离心或用几下使粉体落入底部, 再加 0.6mL 蒸馏水溶解备用。
试剂二	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	粉体 1 支	-20℃保存	临用前用几下使粉剂落入底部, 再加 0.55mL 蒸馏水溶解, 可-20℃分装保存, 禁止反复冻容。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、研钵、天平、离心机。

四、乙醛含量检测:

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!

1、样本制备:

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、上机检测:

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:

试剂名称 (μL)	测定管
样本	20
试剂一	10
试剂二	160
混匀, 室温 (25℃) 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 40 μ L, 则试剂二相应减少) 或样本制备的时候, 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:

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

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。