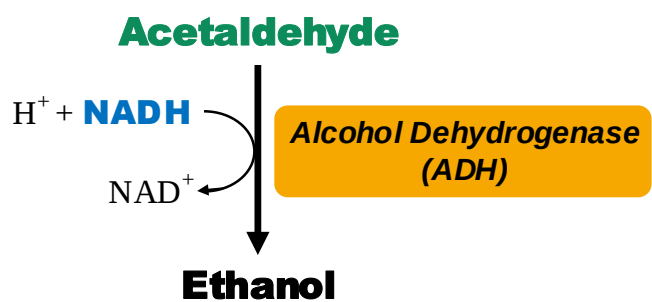




乙醇脱氢酶（ADH）活性检测试剂盒

Alcohol Dehydrogenase (ADH) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



乙醇脱氢酶 (ADH) 活性检测试剂盒

Alcohol Dehydrogenase (ADH) Activity Assay Kit

一、产品描述

乙醇脱氢酶 (ADH) 是广泛分布于人和动物肝脏、植物及微生物细胞之中的含锌金属酶, 具有广泛的底物特异性, 是生物体内短链醇代谢的关键酶, 可催化醇和醛之间的可逆转换, 乙醇脱氢酶与乙醛脱氢酶构成乙醇脱氢酶系, 作为机体重要的代谢酶参与体内乙醇代谢。

乙醇脱氢酶能够催化 NADH 还原乙醛生成乙醇和 NAD^+ , NADH 在 340 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值降低速率即可表征乙醇脱氢酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 120 mL×1 瓶	4°C 保存	内含不溶物, 混匀后使用即可
试剂一	液体 20 mL×1 瓶	4°C 避光保存	使用前将试剂二加入试剂一中充分溶解 (可分装后 -20°C 保存, 避免反复冻融)
试剂二	粉剂×1 支	-20°C 避光保存	
试剂三	液体 3 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿 (光径 10 mm) /96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

①组织: 按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: (5-10) 的比例 (建议称取 0.1 g 组织, 加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴匀浆, 4°C 16000 g 离心 20 min, 取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞: 离心收集细菌或细胞至离心管内, 按照细菌或细胞数量 (10^4 个): 提取液体积 (mL) 为 (500-1000): 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴超声破碎 (功率 300 W, 超声 3 s, 间隔 7 s, 总时间 3 min), 4°C 16000 g 离心 20 min, 取上清置于冰上待测。

③血清 (浆)、培养液等液体样本: 直接检测或适当稀释后再进行检测。

注: 粗酶液不能用于测定蛋白浓度, 需另取样本测定。

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

2.测定步骤

- ①紫外分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。
- ②试验前将试剂一（已加入试剂二）25℃预热 30 min 以上。
- ③在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	20	-
蒸馏水	-	20
试剂一	160	160
试剂三	20	20

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 15 s 时 340 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②测定 75 s 时 340 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。注：空白组只需测定 1-2 次。

3.乙醇脱氢酶（ADH）活性计算

3.1 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟氧化 1 μmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ADH (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_1 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{3.125 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟氧化 1 μmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ADH (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_1 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{3.125 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10⁴ 个细菌或细胞每分钟氧化 1 μmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ADH (U/10}^4\text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_1 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{3.125 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟氧化 1 μmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ADH (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times T} = 3.125 \times \Delta A$$

3.2 使用微量石英比色皿测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟氧化 1 μmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ADH (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_2 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1.608 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟氧化 1 μmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ADH (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_2 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1.608 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟氧化 1 μmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ADH (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_2 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1.608 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟氧化 1 μmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ADH (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times T} = 1.608 \times \Delta A$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm； d_1 ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm； d_2 ：微量石英比色皿光径，1 cm；T：反应时间，60 s=1 min；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量，以万计。

四、注意事项

①准确在 15 s 和 75 s 处完成吸光值测定，以保证实验结果的准确性和重复性；若使用 96 孔 UV 板测定，应使用多道移液器且分批进行检测，以确保组间反应时间一致；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

