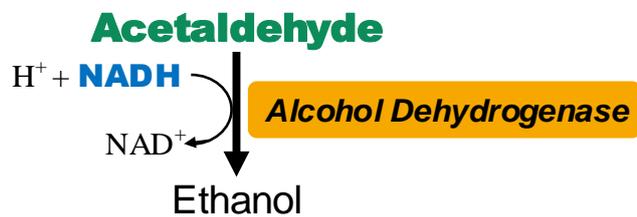




## 乙醇脱氢酶 (ADH) 活性检测试剂盒

### 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<sup>+</sup>, 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 60 mL×1 瓶	4°C 保存	内含不溶物, 充分混匀后使用即可
试剂一	液体 45 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×2 瓶	-20°C 避光保存	使用前每瓶加入 3 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后 -20°C 可保存一周, 避免反复冻融)
试剂三	液体 6 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、1 mL 石英比色皿 (光径 10 mm、狭缝 3 mm、体积 1.05 mL)、研钵/匀浆器、可调式移液器、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 15000 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<sup>4</sup> 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 15000 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。

## 2. 测定步骤

- ① 紫外分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。
- ② 试验前将试剂一 25°C 预热 30 min 以上。
- ③ 在 1 mL 石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 ( $\mu\text{L}$ )	空白组 ( $\mu\text{L}$ )
粗酶液	100	-
蒸馏水	-	100
试剂一	750	750
试剂二	50	50
试剂三	100	100

**吸光值测定：**①充分混匀并立即开始计时，测定 15 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②25°C 恒温准确反应 60 s，测定 75 s（总时间）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

- 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  $\mu\text{mol}$  NADH 定义为一个酶活力单位。

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

- ② 按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟氧化 1  $\mu\text{mol}$  NADH 定义为一个酶活力单位。

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

- 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  $\mu\text{mol}$  NADH 定义为一个酶活力单位。

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

#### 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  $\mu\text{mol}$  NADH 定义为一个酶活力单位。

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

**注释：** V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.1 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积， $1 \times 10^{-3}$  L； $\epsilon$ ：NADH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3$  L/mol/cm；d：1 mL 石英比色皿光径，1 cm；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；T：酶促反应时间，1 min； $10^6$ ：单位换算系数， $1 \text{ mol} = 10^6 \mu\text{mol}$ 。

#### 四、注意事项

- ①样本应尽量保持新鲜，采样后建议尽快完成测定；
- ②粗酶液制备过程建议在冰上进行，切勿使用液氮处理样本，且提取后需当天完成检测，严禁冷冻保存，反复冻融对乙醇脱氢酶稳定性有较大影响；
- ③粗酶液不能用于蛋白浓度测定，若需要使用蛋白浓度计算结果，需另取样本使用 PBS 或生理盐水按照相同比例，单独提取后再进行蛋白浓度测定；
- ④试剂二配制后有效期较短，为便于试验安排，附赠一瓶试剂二作为备用，每瓶均可满足至少 50 个样本的测定；
- ⑤若吸光值大于 3.0，请确认比色皿是否为石英比色皿 (Q)；
- ⑥若 A1 测定大于 1.5 或  $\Delta A$  大于 1.0，建议将粗酶液使用蒸馏水适当稀释后再进行测定；若  $\Delta A$  小于 0.02，建议适当增加样本量或延长酶促反应时间 (延长 5-10 min) 后再进行测定，计算时相应修改；
- ⑦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；
- ⑧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.**

**boxbio**

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.  
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

