

乙醇脱氢酶（ADH）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1007

保存：-20℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：动植物组织、细胞、细菌、真菌、血清（浆）等液体样本

产品简介

ADH 是生物体内短链醇代谢的关键酶，催化乙醇与乙醛可逆转换，在很多生理过程中起着重要作用。哺乳动物 ADH 主要在肝脏生成，肝脏损伤导致 ADH 释放到血清中。血清 ADH 活性高低反映了肝功能是否异常。本试剂盒提供了一种简单、方便、快速的 ADH 活性检测方法，其原理是 ADH 催化 NADH 还原乙醛生成乙醇和 NAD⁺，NADH 在 340nm 处有吸收峰，而 NAD⁺没有；测定 340nm 吸光度下降速率，来计算 ADH 活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
试剂一	50mL	100mL	4℃ 保存
试剂二	10mL	20mL	4℃ 保存
试剂三	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	-20℃避光保存
试剂四	1.5mL	3mL	4℃ 保存

自备耗材

酶标仪或分光光度计（能测 340nm 处的吸光度）
 96 孔 UV 板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头
 水浴锅、制冰机，低温离心机
 去离子水
 匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

试剂一：即用型；4℃ 保存。
 试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。
 试剂三：临用前配制，每瓶加入 9mL 试剂二，充分混匀待用；未用完的试剂分装-20℃避光保存，避免反复冻融。
 试剂四：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

样本制备

动植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 试剂一冰浴匀浆，16,000g，4℃ 离心 10min，取上清液置冰上待测。
 细胞、细菌或真菌：收集 500 万细胞、细菌或真菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞、细菌或真菌，离心后弃上清，加入 1mL 试剂一，超声波破碎细胞、细菌或真菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），8,000g，4℃ 离心 10min，取上清液置冰上待测。
 血清（浆）等液体样本：直接测定，根据预实验确定稀释倍数。
注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

产品说明书

实验步骤

1. 酶标仪或分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 340nm。分光光度计去离子水调零。
2. 试剂三于 37℃ 水浴 10min 以上。
3. 在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入 20 μL 样本上清液、160 μL 试剂三和 20 μL 试剂四，迅速混匀后于 340nm 测定 5min 内吸光值变化，记录 340nm 处 1min 时的吸光值 A_1 和 6min 的吸光值 A_2 。 $\Delta A = A_1 - A_2$ 。

注意：1. 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 ΔA 小于 0.001 可将反应时间延长到 10 分钟，计算时调整公式中的时间；如果 ΔA 大于 0.5，可用试剂一稀释样品，计算时结果乘以稀释倍数。

2. 测定反应的温度对测定结果有影响，请控制在 37℃。

3. 因通过反应速率计算酶活，使用 96 孔 UV 板时请根据操作速度控制一次测定的样本数（通常一次测定 4-8 个样本），不推荐同时测多个样本。

结果计算

A. 用 96 孔板测定的计算公式如下

1. 按样本鲜重计算：

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每分钟消耗 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ADH (U/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 643 \times \Delta A \div W$$

2. 按细胞、细菌或真菌数量计算：

单位的定义：每 1 万个细胞、细菌或真菌在反应体系中每分钟消耗 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ADH (U/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 1.286 \times \Delta A$$

3. 按液体体积计算：

单位的定义：每 mL 液体样本在反应体系中每分钟消耗 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ADH (U/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 643 \times \Delta A$$

4. 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟消耗 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ADH (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 643 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

此法需要自行测定样本蛋白质浓度。

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 mol/L/cm； d ：96 孔板光径，0.5cm； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入试剂一体积，1mL； T ：反应时间，5min； C_{pr} ：样本蛋白质浓度，mg/mL； W ：样品质量，g；500：细胞、细菌或真菌总数，500 万。

B. 使用微量石英比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中的光径 d :0.5cm 调整为 d :1cm 进行计算即可。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1001 乳酸脱氢酶 (LDH) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1002 NAD-苹果酸脱氢酶 (NAD-MDH) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1003 NADP-苹果酸脱氢酶 (NADP-MDH) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1013 6-磷酸葡萄糖脱氢酶 (G6PDH) / 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶检测试剂盒 (微量法)

PMK1014 胞浆异柠檬酸脱氢酶 (ICDHc) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1114 线粒体苹果酸脱氢酶 (MDHm) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

