

乙醇脱氢酶（ADH）活性测定试剂盒（紫外分光光度法）

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1439

产品规格：50管/48样

产品内容：

试剂一：液体×1瓶，室温保存。

试剂二：液体×1瓶，4℃保存。临用前把试剂三转移到试剂二中，4℃保存。

试剂三：粉剂×1瓶，-20℃保存。

试剂四：液体×1支，4℃保存。

测定意义：

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。

测定原理：

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。

需自备的仪器和用品：

研钵、冰、低温离心机、紫外分光光度计、1mL石英比色皿、可调式移液器和蒸馏水。

粗酶液提取：

1. 组织：按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为 1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL试剂一）进行冰浴匀浆。16000g，4℃离心20min，取上清置冰上待测。
2. 细菌、真菌：按照细胞数量（10⁴个）：试剂一体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细胞加入1mL试剂一），冰浴超声波破碎细胞（功率300w，超声3秒，间隔7秒，总时间3min）；16000g，4℃离心20min，取上清液置冰上待测。
3. 血清等液体：直接测定。

ADH 测定操作：

1. 分光光度计预热30 min，调节波长到340 nm，蒸馏水调零。
2. 试剂二在25℃水浴中保温30 min。
3. 空白管：在1mL石英比色皿中依次加入100μL蒸馏水、800μL试剂二和100μL试剂四，迅速混匀后于340nm测定吸光值变化，分别记录15s和75s时吸光值，分别记为A1和A2。ΔA空白管=A1-A2。
4. 测定管：在1mL石英比色皿中依次加入100μL上清液、800μL试剂二和100μL试剂四，迅速混匀后于340nm测定吸光值变化，分别记录15s和75s时吸光值，分别记为A3和A4。ΔA 测定管=A3-A4。

注意：空白管只需测定一次。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

计算公式:

(1) 按照蛋白浓度计算

活性单位定义: 25°C 中每毫克蛋白每分钟氧化 1 μ mol NADH 为1个酶活单位。

$ADH (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [(\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^6] \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 1.61 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div C_{\text{pr}}$

(2) 按照样本质量计算

活性单位定义: 25°C 中每克组织每分钟氧化 1 μ mol NADH 为 1 个酶活单位。

$ADH (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}) = [(\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^6] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1.61 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div W$

(3) 按细胞数量计算

活性单位定义: 25°C 中每10⁴个细胞每分钟氧化 1 μ mol NADH 为 1 个酶活单位。

$ADH (\mu\text{mol}/\text{min}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^6] \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1.61 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \text{细胞数量}$

(4) 按液体体积计算

活性单位定义: 25°C 中每毫升血清每分钟氧化1 μ mol NADH为1个酶活单位。

$ADH (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}) = [(\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^6] \div V_{\text{样}} \div T = 1.61 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}})$

ϵ : NADH 摩尔消光系数, 6.22 $\times 10^3$ L/mol/cm; d : 比色皿光径, 1 cm; $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 1000 μ L=0.001 L; C_{pr} : 上清液蛋白质浓度, mg/mL; W : 样本质量, g; $V_{\text{样}}$: 加入 反应体系中上清液体积, 100 μ L=0.1 mL; T : 反应时间, 1min。

注意事项:

1. 上清液蛋白质浓度需要另外测定, 建议使用本公司BCA蛋白质含量测定试剂盒。
2. 配制好的试剂二3天使用完。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com