Alcohol dehydrogenase Activity Assay Kit

乙醇脱氢酶(ADH)试剂盒说明书（速率法）

货号：G0874W | 方法：微板法 | 规格：96 样

一、产品简介：

乙醇脱氢酶(ADH，EC 1.1.1.1)存在于许多生物体中，在人类和许多其他动物中，能分解有毒的醇类；在酵母和许多细菌中，一些醇脱氢酶催化的逆反应作为发酵的一部分。

本试剂盒利用乙醇脱氢酶催化乙醛和 NADH 生成乙醇和 NAD^+，通过检测 NADH 在 340nm 的下降速率，进而计算出乙醇脱氢酶活性的大小。

二、试剂盒组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂 mg×2 支	-20℃保存	用前甩几下或离心使试剂落入底部，再加 0.55mL 蒸馏水溶解，用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融，三天内用完。
试剂二	液体 13mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 1mL×2 支	4℃保存	

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

四、乙醇脱氢酶(ADH)活性测定：

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：

建议称取约 0.1g 组织，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/培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（10^4 个）：建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000rpm, 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照数量（10^4 个）：提取液体积为 500~1000：1 的比例进行提取

③ 液体样本：直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机检测：

① 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 340nm。

② 试剂放在 37℃水浴 5min；

③ 在 96 孔板中按照下表依次加入试剂：

试剂名称（μL）	测定管
样本	40
试剂一	10

For research use only. Not for use in diagnostic or therapeutic procedures.
本产品仅供科研使用，不得用于临床诊断或治疗。

试剂二	130
试剂三	20
混匀，立即于 340nm 下读取 A1 值，室温（25℃）下，5min 后读取 A2 值。ΔA=A1-A2。	

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、按样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟消耗 1nmol NADH 的酶量为 1 个酶活单位。

ADH(nmol/min/mg prot)=[ΔA÷(ε×d)×10^9×V2]÷(V1×Cpr) ÷T=321.54×ΔA÷Cpr

2、按样本鲜重计算：

酶活定义：每克组织每分钟消耗 1 nmol NADH 的酶量为 1 个酶活单位。

ADH(nmol/min/g 鲜重)=[ΔA÷(ε×d)×10^9×V2]÷(W×V1÷V)÷T=321.54×ΔA÷W

3、按细菌/细胞密度计算：

酶活定义：每 1 万个细菌/细胞每分钟消耗 1 nmol NADH 的酶量为 1 个酶活单位。

ADH(nmol/min/10^4 cell)=[ΔA×V2÷(ε×d)×10^9]÷(500×V1÷V)÷T=0.643×ΔA

4、按液体体积计算：

酶活定义：每毫升液体样本每分钟消耗 1nmol NADH 的酶量为 1 个酶活单位。

ADH 酶活(nmol/min/mL)=[ΔA×V2÷(ε×d)×10^9]÷V1÷T=321.54×ΔA

V1---加入样本体积，0.04mL；　　V---加入提取液体积，1mL；

V2---反应体系总体积，2×10^{-4} L；　　d---96 孔板光径，0.5cm；

500----细菌或细胞总数，500 万；　　W---样本质量，g；

ε---NADH 摩尔消光系数，6.22×10^3 L/mol/cm；　　T---反应时间，5min；

Cpr---蛋白质浓度，mg/mL，建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。

For research use only. Not for use in diagnostic or therapeutic procedures.
本产品仅供科研使用，不得用于临床诊断或治疗。