

# 乙醇脱氢酶(ADH)测试盒

(货号: BC122 测血清、血浆)

## 一、测定原理:

利用乙醇脱氢酶(ADH)催化氧化型辅酶 I 反应的原理,通过测定 340nm 处吸光度的变化率得出其酶活性。

## 二、试剂的组成和配制 (50 管/48 样):

**试剂一:** 20mL 液体×1 瓶,4℃保存,应用液的配制:临用前用双蒸水 1:1 稀释即可。

**试剂二:** 3mL 液体×1 瓶, 4℃保存。

**试剂三:** 粉剂×4 瓶, -20℃以下保存。临用前每瓶用 10mL 双蒸水配制成试剂三应用液,-20℃保存。

## 三、操作步骤:

	空白管	测定管
试剂一应用液(mL)	0.65	0.65
试剂二(mL)	0.05	0.05
试剂三应用液(mL)	0.75	0.75
混匀,37℃预温 10 分钟		
血清(浆)(mL)		0.05
双蒸水(mL)	0.05	

加入样本的同时开始计时,充分混匀,15 秒时,340nm 处,0.5cm 光径,测定 OD 值 A<sub>1</sub>,迅速将反应液置于 37℃水浴锅中,20 分 15 秒时取出,测定 OD 值 A<sub>2</sub>。计算  $\Delta A=A_2-A_1$ 。

## 四、详细操作步骤:

**工作液的配制:** 按试剂一应用液:试剂二:试剂三应用液 = 0.65 : 0.05 : 0.75 的比例配制,用多少配多少现用现配(最好用之前配制,配完即用)。

- 1、将紫外分光光度计于 340nm 处,0.5cm 光径石英比色皿,用双蒸水调零;(石英比色皿准备两只,一只用于调零,一只用于测定)。
- 2、往相应编号的试管中加入 50 $\mu$ L 新鲜血清(浆),吸取工作液 1.45mL 冲入试管中,快速混匀,并计时;(空白管取双蒸水 50 $\mu$ L,吸取工作液 1.45mL 冲入试管中,快速混匀,并计时,其它操作与测定管相同)
- 3、迅速倒入石英比色皿中,紫外分光光度计,340nm 处比色,15 秒时读取吸光度值 A<sub>1</sub>;
- 4、将此比色液倒入原试管中置 37℃准确水浴 20 分钟,再迅速倒入石英比色皿中,20 分 15 秒时读取吸光度值 A<sub>2</sub>;
- 5、求出 2 次吸光度差值 ( $\Delta A=A_2-A_1$ )。

## 五、血清(浆)中乙醇脱氢酶(ADH)活力计算:

1、**定义:** 在 37℃条件下,每毫升血清(浆)每分钟催化产生 1nmol 产物的酶量定义为一个酶活力单位

2、**血清(浆)中乙醇脱氢酶(ADH)活力计算公式:**

$$\text{ADH (U/mL)} = \frac{\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}}{6.22 \times 0.5} \times \frac{V_{\text{反应总}}}{V_{\text{样}}} \div T \times 1000$$

$V_{\text{反应总}}$ : 反应液总体积, 1.5mL;

$V_{\text{样}}$ : 样本取样量, 0.05mL;

$T$ : 反应时间, 20 分钟。

### 3、计算举例:

取人血清 50 $\mu$ L, 按照操作表进行操作, 测得数据如下: 空白 A1 0.165, A2 0.166 ( $\Delta A_{\text{空白}}=0.001$ ); 测定 A1 0.137, A2 0.163 ( $\Delta A_{\text{测定}}=0.026$ )。根据公式计算如下:

$$\begin{aligned} \text{ADH (U/mL)} &= \frac{0.026 - 0.001}{6.22 \times 0.5} \times \frac{1.5}{0.05} \div 20 \times 1000 \\ &= 12.06\text{U/mL} \end{aligned}$$

### 六、测定意义:

95%的乙醇脱氢酶(ADH)存在于肝小叶中心区, 在肝细胞浆中占 80-90%, 小部分存在于微粒中。