

动物组织中甲醛脱氢酶（FDH）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1909

产品规格：100T/96S

产品简介：

甲醛脱氢酶存在于绝大多数原核生物以及所有的真核生物中，是一种将甲醛进行转换的氧化还原酶。甲醛脱氢酶可催化甲醛和NAD⁺产生NADH，在340nm处的吸光值会增加，测定340nm处的吸光值变化，可计算得到甲醛脱氢酶的活性。

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体110mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体15mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×2支	-20℃
试剂三	粉剂×2支	2-8℃
试剂四	液体2mL×1瓶	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加入0.25mL蒸馏水，充分混匀；用不完的试剂-20℃分装保存两周，避免反复冻融。（1瓶粉剂溶解后可做100T，为了延长使用时间，此产品多给1瓶粉剂）
2. 试剂二工作液：根据试验所需用量，按照试剂二（ μL ）：蒸馏水（ μL ）=1：29比例配成工作液，现配现用。试剂二工作液当天配制当天用完。
3. 试剂三：临用前加入0.6mL蒸馏水，充分溶解；用不完的试剂2-8℃分装保存两周。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计/酶标仪、低温离心机、恒温培养箱/水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔板、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

组织：按照动物组织质量（g）：提取液体积（mL）=1：5~10的比例（建议称取0.1g动物组织，加入1mL提取液），冰浴匀浆，8000g，4℃条件下离心10min；取上清（若上清不够澄清，建议重复上述离心步骤）置于冰上待测。

二、测定步骤

1. 紫外分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至340nm，用蒸馏水调零。
2. 临用前将试剂一、试剂四置于37℃预热10min。
3. 在微量石英比色皿或96孔UV板中依次加入20 μL 样本、110 μL 试剂一、50 μL 试剂二工作液、10 μL 试剂三、10 μL 试剂四，立即充分混匀后于340nm处测定20s时的吸光值A1，迅速置于37℃水浴锅或者培养箱中反应5min（酶标仪有控温功能可将温度调至37℃），拿出迅速擦干测定5min20s时的吸光值A2，计算 $\Delta A=A_2-A_1$ 。

三、动物组织中甲醛脱氢酶活性计算

A、按微量石英比色皿计算



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

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

1. 按样本蛋白浓度计算:

单位的定义: 每mg组织蛋白每分钟催化生成1nmol NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{FDH酶活 (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T \times F = 321.54 \times \Delta A \div C_{\text{pr}} \times F$$

2. 按样本质量计算:

单位的定义: 每g组织每分钟催化生成1nmol NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{FDH酶活 (U/g质量)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T \times F = 321.54 \times \Delta A \div W \times F$$

ϵ : NADH摩尔消光系数, 6220L/mol/cm; d : 比色皿光径, 1cm; $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 2×10^{-4} L; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.02mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; T : 反应时间, 5min; C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mg/mL; W : 样本质量, g; 10^9 : 单位换算系数, $1\text{mol} = 10^9\text{nmol}$; F : 稀释倍数。

B、按96孔板 (UV 板) 计算

将上述公式中 $d=1\text{cm}$ 变为 $d=0.6\text{cm}$, 代入公式进行计算即可。

注意事项:

1. 如果测定吸光值 $A > 1.5$ 或 $\Delta A > 0.5$, 建议用提取液稀释样本后再测定, 计算公式中乘以稀释倍数; 如果测定吸光值较低, 建议增加样本量后再进行测定。
2. 试剂四有毒性, 实验时请佩戴口罩手套等防护用具。



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

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com