

微生物及液体样本中甲醛脱氢酶（FDH）活性检测试剂盒 （微量法）

产品货号：BA1911

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：临用前取1支加入0.25mL蒸馏水，震荡使其充分溶解（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），可分装后-20℃保存2周，避免反复冻融。
2. 试剂二工作液：临用前按试剂二：蒸馏水=1:29的体积比例稀释试剂二，现用现配。
3. 试剂三：临用前取1支加入0.6mL蒸馏水，震荡使其充分溶解。用不完的试剂4℃分装保存2周。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔UV板、低温离心机、恒温水浴锅/培养箱、可调式移液枪、超声波细胞破碎仪、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）

细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照每500万细菌或细胞加入1mL提取液，超声波破碎细胞（功率300w，超声3s，间隔9s，总时间3min）；然后8000g，4℃，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。

血清及液体样本：直接检测，若液体不澄清，可以离心后取上清测定。

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，分光光度计蒸馏水调零。
2. 临用前将试剂一置于37℃预热10min。
3. 在微量石英比色皿或96孔UV板中依次加入20μL样本、110μL试剂一、50μL试剂二工作液、10μL试剂三、10μL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 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。



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

三、酶活性计算

A、按微量石英比色皿计算

1. 细菌或培养细胞中FDH活力的计算

(1) 按细菌或细胞数量计算:

单位的定义: 每 10^4 个细菌或细胞每分钟催化 1nmol NAD^+ 生成 1nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FDH酶活 (U/10}^4\text{ cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times N) \div T \times F = \Delta A \times 321.54 \div N \times F$$

(2) 按蛋白浓度计算:

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

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

2. 血清(浆)或液体样本FDH活力的计算

(1) 按液体体积计算:

单位的定义: 每 mL 液体样本中每分钟催化 1nmol NAD^+ 生成 1nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

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

(2) 按蛋白浓度计算:

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

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

ϵ : NADH摩尔消光系数, 6220L/mol/cm ; d : 石英比色皿光径, 1cm ; Cpr : 样本蛋白质浓度, mg/mL ; $V_{\text{反总}}$: 酶促反应总体积, $2 \times 10^{-4}\text{L}$; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL ; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.02mL ; T : 反应时间, 5min ; Cpr : 样本蛋白质浓度, mg/mL ; N : 细胞或细菌总数, 以万计; F : 稀释倍数; 10^9 : 单位换算系数, $1\text{mol} = 10^9\text{nmol}$ 。

B、按96孔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措施。



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