

## 亮氨酸脱氢酶(LeuDH)活性测定试剂盒（微板法）

产品货号：BA2702

产品规格：96样

### 产品简介：

亮氨酸脱氢酶(LeuDH, EC 1.4.1.9)是一种NAD<sup>+</sup>依赖型的氧化还原酶，能够可逆地催化L-亮氨酸和支链L-氨基酸反应生成相应的 $\alpha$ -酮酸及其类似物。

本试剂盒利用亮氨酸脱氢酶(LeuDH)催化2-酮丁酸和NADH生成氨基丁酸和NAD<sup>+</sup>，通过检测NADH在340nm的下降速率，进而计算出亮氨酸脱氢酶(LeuDH)活性大小。

### 产品内容：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体100mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	液体0.6mL×2支	-20℃	用不完的试剂分装后-20℃保存。
试剂二	粉剂mg×2支	2-8℃	用前甩几下或离心使试剂落入底部，每支再加0.6mL蒸馏水充分溶解，用不完的试剂分装后-20℃保存。
试剂三	粉剂mg×2支	2-8℃	用前甩几下使试剂落入底部，每支再加0.6mL蒸馏水充分溶解，4℃保存。
试剂四	液体20mL×1瓶	2-8℃	

### 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。

### 亮氨酸脱氢酶(LeuDH)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 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

② 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，蒸馏水调零。

② 试剂解冻至室温(25℃)或于25℃水浴中孵育10min。

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	10
试剂一	10
试剂二	10
试剂三	10



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

试剂四	160
轻轻混匀，立即于340nm处读取A1，35℃条件下孵育10min后读取A2， $\Delta A = A1 - A2$ 。	

【注】：1.若 $\Delta A$ 过小如小于0.01，可增加样本体积V1（如增至40 $\mu$ L，则试剂四相应减少），或延长反应时间T(如：30min)，重新调整后V1和T需代入公式重新计算。

2.若 $\Delta A$ 值大于0.4，需减少样本体积V1(如减至5 $\mu$ L，则试剂四相应增加)，或缩短反应时间T(如：2min或更短)，重新调整后的样本体积V1和反应时间T需代入计算公式重新计算。

#### 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1nmolNADH的酶量为1个酶活单位。

$$\text{LeuDH}(\text{nmol/min/mg prot}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V2] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T = 643.1 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

##### 2. 按细菌/细胞密度计算：

酶活定义：每一万个细菌/细胞每分钟消耗1nmol NADH的酶量为1个酶活单位。

$$\text{LeuDH}(\text{nmol/min}/10^4\text{cell}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 643.1 \times \Delta A \div 500$$

##### 3. 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。

$$\text{LeuDH 酶活}(\text{nmol/min/mL}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \div V1] \div T = 643.1 \times \Delta A$$

V1---加入样本体积，0.01mL；V---加入提取液体积，1mL；V2---反应体系总体积，2 $\times 10^{-4}$ L；d---光径，0.5cm；500---细菌或细胞总数，万；W---样本质量，g； $\epsilon$ ---NADH摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{L/mol/cm}$ ；T---反应时间，10min；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。



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