

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⁺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 α -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⁺，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°C	
试剂一	液体0.6mL×2支	-20°C	用不完的试剂分装后-20°C保存。
试剂二	粉剂mg×2支	2-8°C	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°C保存。
试剂三	粉剂mg×2支	2-8°C	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°C保存。
试剂四	液体20mL×1瓶	2-8°C	

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(10⁴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°C离心10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照数量(10⁴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°C)或于25°C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



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

扫一扫 加微信

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

【注】:

- 1.若 ΔA 过小如小于0.01, 可增加样本体积V1(如增至40 μ 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 ΔA 值大于0.4, 需减少样本体积V1(如减至5 μ 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。

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

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 10⁻⁴L; d---光径, 0.5cm; 500---细菌或细胞总数, 万; W---样本质量, g; ϵ ---NADH摩尔消光系数, 6.22 \times 10³L/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。



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

扫一扫 加微信