

## 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<sup>+</sup>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：

- 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）
- 试剂二工作液：根据试验所需用量，按照试剂二（ $\mu\text{L}$ ）：蒸馏水（ $\mu\text{L}$ ）=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。
- 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0.1 g动物组织，加入1mL提取液），冰浴匀浆，8000 g，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

- 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。
- 临用前将试剂一、试剂四置于37℃预热10min。
- 在微量石英比色皿或96孔UV板中依次加入20 $\mu\text{L}$ 样本、110 $\mu\text{L}$ 试剂一、50 $\mu\text{L}$ 试剂二工作液、10 $\mu\text{L}$ 试剂三、10 $\mu\text{L}$ 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



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

#### A、按微量石英比色皿计算

##### 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。

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

$\epsilon$ : 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,  $2 \times 10^{-4}$ 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;  $C_{\text{pr}}$ : 样本蛋白质浓度, mg/mL;  $W$ : 样本质量, g;  $10^9$ : 单位换算系数, 1mol=10<sup>9</sup>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

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>