

# 微生物及液体样本中甲醛脱氢酶（FDH）活性检测试剂盒 （紫外分光光度法）

产品货号：BA1910

产品规格：50T/48S

## 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<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60mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体35mL×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3mL×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，震荡溶解；用不完的试剂-20℃分装保存2周。
2. 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。
3. 试剂三：临用前取1支加入1.5mL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、1mL石英比色皿、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. 紫外分光光度计预热30min以上，调节波长至340nm，蒸馏水调零。
2. 临用前将试剂一置于37℃预热20min。
3. 在1mL石英比色皿中依次加入100 $\mu\text{L}$ 样本、550 $\mu\text{L}$ 试剂一、250 $\mu\text{L}$ 试剂二工作液、50 $\mu\text{L}$ 试剂三、50 $\mu\text{L}$ 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，拿出迅速擦



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

干测定5min20s时的吸光值A2，记录340nm下20s时吸光值A1和5min后的吸光值A2。计算 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

### 三、酶活性计算

#### 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<sup>+</sup>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<sup>+</sup>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<sup>+</sup>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<sup>+</sup>生成1nmol NADH定义为一个酶活力单位。

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

$\epsilon$ : NADH摩尔消光系数, 6220L/mol/cm;  $d$ : 石英比色皿光径, 1cm;  $\text{Cpr}$ : 样本蛋白质浓度, mg/mL;  $V_{\text{反总}}$ : 酶促反应总体积, 0.001L;  $V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积, 1mL;  $V_{\text{样}}$ : 加入样本体积, 0.1mL;  $T$ : 反应时间, 5min;  $\text{Cpr}$ : 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, 1mol=10<sup>9</sup>nmol。

### 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

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