

## 甲酸脱氢酶(FDH)活性测定试剂盒（紫外分光光度法）

产品货号：BA2687

产品规格：48样

### 产品简介：

甲酸脱氢酶(FDH, EC 1.2.1. 2)属于D-2-羧基酸脱氢酶类，广泛应用于辅酶NADH的再生中。

本试剂盒利用甲酸脱氢酶(FDH)催化甲酸和NAD<sup>+</sup>不可逆反应生成二氧化碳和NADH，通过检测NADH在340nm的生成速率，进而计算出甲脱氢酶(FDH)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60mL×1瓶 | 2-8℃ |                                   |
| 试剂一  | 粉剂mg×2支   | 2-8℃ | 使用前甩几下或离心使试剂落入底部，每支再加0.6mL的蒸馏水溶解。 |
| 试剂二  | 粉剂mg×2支   | 2-8℃ | 使用前甩几下或离心使试剂落入底部，每支再加0.6mL的蒸馏水溶解。 |
| 试剂三  | 液体35mL×1瓶 | 2-8℃ |                                   |

### 所需的仪器和用品：

紫外分光光度计、1mL石英比色皿（光径1cm）、可调式移液器、台式离心机、可调式移液器、水浴锅、研钵、冰和蒸馏水。

### 甲酸脱氢酶(FDH)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 组织样本：称取约0.1g组织(水分充足的样本可取0.25g)，加入1mL提取液，进行冰浴匀浆。4℃×12000rpm离心10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为 1:5~10的比例进行提取。

② 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。

③ 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 紫外分光光度计预热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1mL石英比色皿(光径1cm)中按照下表依次加入试剂：

| 试剂名称 (μL) | 测定管 |
|-----------|-----|
| 样本        | 60  |
| 试剂一       | 20  |



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

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| 试剂二                                                         | 20  |
| 试剂三                                                         | 620 |
| 混匀，立即于340nm处读取A1，35℃条件下孵育10min后读取A2， $\Delta A = A2 - A1$ 。 |     |

【注】：1. 若 $\Delta A$ 过小如小于0.01，可增加样本体积V1(如增至120 $\mu$ L，则试剂三相应减少)，或延长反应时间T(如：30min)或增加样本质量W(如增加为0.2g)，重新调整后V1和T和W需代入公式重新计算。  
2. 若 $\Delta A$ 值大于0.5且A2值大于1.8，需减少样本体积V1(如减至30 $\mu$ L，则试剂三相应增加)，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. 按样本鲜重计算：

酶活定义：每克组织样本每分钟生成1nmol NADH的酶量为1个酶活单位。

$$FDH(nmol/min/g \text{ 重量}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V2] \div (V1 \times W) \div T = 193 \times \Delta A \div W$$

##### 2. 按样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟生成1nmol NADH的酶量为1个酶活单位。

$$FDH(nmol/min/mg \text{ prot}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V2] \div (V1 \times Cpr) \div T = 193 \times \Delta A \div Cpr$$

##### 3. 按细菌/细胞密度计算：

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

$$FDH(nmol/min/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 193 \times \Delta A \div 500$$

##### 4. 按液体体积计算：

酶活定义：每毫升液体样本每分钟生成1nmol NADH的酶量为1个酶活单位。

$$FDH \text{ 酶活}(nmol/min/mL) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \div V1] \div T = 193 \times \Delta A$$

V1---加入样本体积，0.06mL；V---加入提取液体积，1mL；V2---反应体系总体积，7.2 $\times 10^{-4}$ L；d---光径，1cm；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 $\times 10^3$ 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

**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