

植物组织中甲醛脱氢酶（FDH）活性检测试剂盒说明书

紫外分光光度法

货号：BC4970

规格：50T/48S

产品内容：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 35 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×1 支	-20℃保存
试剂三	粉剂×1 支	2-8℃保存
试剂四	液体 3 mL×1 瓶	2-8℃保存

溶液的配制：

- 1、试剂二：临用前加入 0.5 mL 蒸馏水，充分混匀；用不完的试剂-20℃分装保存 4 周，避免反复冻融。
- 2、试剂二工作液：根据实验所需用量，按照试剂二（μL）:蒸馏水（μL）=25μL:725μL（共 750μL，约 3T）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：临用前加入 3 mL 蒸馏水，充分溶解；用不完的试剂 2-8℃分装保存 4 周。

产品说明：

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⁺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。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计、低温离心机、恒温培养箱/水浴锅、可调式移液器、1 mL 石英比色皿、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：按照植物组织质量（g）：提取液体积（mL）=1:5~10 的比例（建议称取 0.1 g 植物组织，加入 1 mL 提取液），冰浴匀浆，8000 g，4℃条件下离心 10 min；取上清置于冰上待测。

二、测定步骤

- 1、紫外分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。
- 2、临用前将试剂一置于 25℃预热 10 min。
- 3、在 1 mL 石英比色皿中依次加入 100 μL 样本、550 μL 试剂一、250 μL 试剂二工作液、50 μL 试剂三、50 μL 试剂四，立即充分混匀并计时，记录 340 nm 下 20s 时吸光值 A1 和 5min20s 后的吸光值 A2。计算 ΔA=A2-A1。





三、植物组织中甲醛脱氢酶活性计算

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1 nmol NADH定义为一个酶活性单位。

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

2、按样本质量计算：

单位的定义：每g组织每分钟催化生成1 nmol NADH定义为一个酶活性单位。

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

ϵ : NADH 摩尔消光系数, 6220 L/mol/cm; d : 1 mL石英比色皿光径, 1 cm; $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 0.001L; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.1 mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1 mL; T : 反应时间, 5 min; C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mg/mL; W : 样本质量, g; F : 稀释倍数; 10^9 : 单位换算系数, 1mol=10⁹ nmol。

注意事项：

- 1、如果测定吸光值 $A_{210} > 1.0$ 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用具。

实验实例：

- 1、称取 0.1 g 绿萝叶片组织, 加入 1 mL 提取液, 冰浴匀浆, 8000 g, 4℃条件下离心 10 min; 取上清置于冰上待测。使用 1 mL 石英比色皿按照测定步骤操作, 计算 $\Delta A = A_{210} - A_{110} - 0.631 - 0.491 - 0.140$, 按公式计算绿萝叶片组织中甲醛脱氢酶活性:

$$\text{FDH酶活 (U/g 质量)} = 321.54 \times \Delta A \div W \times F = 450.156 \text{ U/g 质量}$$

相关系列产品：

BC4980/BC4985 动物组织中甲醛脱氢酶 (FDH) 活性检测试剂盒

BC4990/BC4995 细胞、细菌及其它液体样本中甲醛脱氢酶 (FDH) 活性检测试剂盒

