

动物组织中甲醛脱氢酶（FDH）活性检测试剂盒说明书

微量法

货号: BC4985

规格: 100T/96S

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 110 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 15 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×2 支	-20℃保存
试剂三	粉剂×2 支	2-8℃保存
试剂四	液体 2 mL×1 瓶	2-8℃保存

溶液的配制:

- 1、试剂二: 临用前加入 0.25 mL 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)
- 2、试剂二工作液: 根据试验所需用量, 按照试剂二 (μL): 蒸馏水 (μL) = 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: 临用前加入 0.6 mL 蒸馏水, 充分溶解; 用不完的试剂 2-8℃分装保存两周。

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/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 UV 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 1 mL 提取液), 冰浴匀浆, 8000 g, 4℃条件下离心 10 min; 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

- 1、紫外分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上, 调节波长至 340 nm, 分光光度计蒸馏水调零。
- 2、临用前将试剂一、试剂四置于 37℃预热 10 min。
- 3、在微量石英比色皿或 96 孔 UV 板中依次加入 20 μL 样本、110 μL 试剂一、50 μL 试剂二工作液、10 μL 试剂





10 μ L 试剂四，充分混匀后于 340nm 处测定 20s 时的吸光值 A1，迅速置于 37°C 水浴或培养箱 5min（酶标仪有控温功能可将温度调至 37°C），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

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1 nmol 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1 nmol NADH定义为一个酶活力单位。

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

ϵ : NADH 摩尔消光系数, 6220 L/mmol/cm; d: 微量石英比色皿光径, 1 cm; $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 2×10^{-4} L; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.02 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; 10^9 : 单位换算系数, 1mol=10⁹ nmol; F: 稀释倍数。

B、按 96 孔 UV 板计算

将上述公式中 d=1 cm 变为 d=0.6 cm (96 孔 UV 板光径)，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。

实验实例：

- 1、称取 0.1 g 小鼠心脏组织，加入 1 mL 提取液，冰浴匀浆，8000 g，4°C 条件下离心 10 min；取上清置于冰上待测。使用微量石英比色皿按照测定步骤操作，计算 $\Delta A = A_2 - A_1 = 0.6385 - 0.3807 = 0.2578$ ，按公式计算小鼠心脏组织中甲醛脱氢酶活性：

$$\text{FDH酶活 (U/g 质量)} = 321.54 \times \Delta A \div W \times F = 825.9 \text{ U/g 质量}$$

- 2、称取 0.1 g 小鼠肝脏组织，加入 1 mL 提取液，冰浴匀浆，8000 g，4°C 条件下离心 10 min；取上清稀释 10 倍置于冰上待测。使用微量石英比色皿按照测定步骤操作，计算 $\Delta A = A_2 - A_1 = 0.2534 - 0.1699 = 0.0835$ ，按公式计算小鼠肝脏组织中甲醛脱氢酶活性：

$$\text{FDH酶活 (U/g 质量)} = 321.54 \times \Delta A \div W \times F = 2684.9 \text{ U/g 质量}$$

相关系列产品：

BC4970/BC4975 植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

