



甲醛脱氢酶活性检测试剂盒 FDH Assay Kit

微量法

产品编号: AK379M
产品规格: 100T/96S
产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES379	100mL×1 瓶	4℃保存;
AK379-A	15mL×1 瓶	4℃保存;
AK379-B	粉剂×1 瓶	-20℃保存; 临用前加入 6mL 水溶解待用, 剩余试剂分装后-20℃保存, 禁止反复冻融。
AK379-C	粉剂×1 支	4℃保存; 临用前加入 1.5mL 水溶解待用。
AK379-D	1.5mL×1 支	4℃避光保存;

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 甲醛是一种能与蛋白质、核酸和脂类产生非特异性反应的活泼化合物, 对所有生物都具有很高毒性。甲醛脱氢酶 (Formaldehyde dehydrogenase, FDH) 作为含锌中等链醇脱氢酶 (ADH) 的家庭成员之一, 广泛存在于原核和真核生物中, 该酶能利用 NAD⁺ 作为辅酶, 将有机的甲醛氧化, 是甲醛氧化途径中的关键酶。

原理: 甲醛脱氢酶催化甲醛和 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。

自备用品:

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。

FDH 提取:

1. 组织: 按照组织质量 (g): ES379 体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL ES379) 进行冰浴匀浆, 然后 10000g, 4℃, 离心 20min。
2. 细胞: 按照细胞数量 (10⁴ 个): ES379 体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL ES379), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 然后 10000g, 4℃, 离心 10min, 取上清置于冰上待测。
3. 液体: 直接检测。

测定步骤:

1. 紫外分光光度计/酶标仪预热 30min, 调节波长至 340nm。
2. 操作表 (在 96 孔板中加入如下试剂)

试剂名称	测定管 (μL)
样本	20
AK379-A	110
AK379-B	50
AK379-C	10
AK379-D	10
混匀, 于 340nm 下测定初始吸光值 A1 与 5min 后的吸光值 A2, $\Delta A = A2 - A1$ 。	

注：若样本数量较多，可将试剂按比例配成工作液使用。

FDH 活性计算：

1. 按蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克蛋白每分钟催化还原 1nmol NAD⁺的酶量为 1 个酶活单位。

$$\text{FDH 酶活 (nmol/min/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 643 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2. 按样本质量计算：

酶活定义：每克样品每分钟催化还原 1nmol NAD⁺的酶量为 1 个酶活单位。

$$\text{FDH 酶活 (nmol/min/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 643 \times \Delta A \div W$$

3. 按照细胞数量计算：

酶活定义：每 10⁴ 个细胞每分钟催化还原 1nmol NAD⁺的酶量为 1 个酶活单位。

$$\text{FDH 酶活 (nmol/min/10}^4\text{cell)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量 (万个)}) \div T = 643 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

4. 按液体体积计算：

酶活定义：每 mL 样本每分钟催化还原 1nmol NAD⁺的酶量为 1 个酶活单位。

$$\text{FDH 酶活 (nmol/min/mL)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \div V_{\text{样}} \div T = 643 \times \Delta A$$

注：ε：NADH 微摩尔消光系数，6.22×10⁻³ L/μmol/cm；d：96 孔板光径，0.5cm；V_{反总}：反应体系总体积，0.2mL；V_样：反应体系中样本体积，0.02mL；V_{样总}：加入 ES379 体积，1mL；T，反应时间，5min；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))