



甲醛脱氢酶活性检测试剂盒 FDH Assay Kit

紫外分光光度法

产品编号：AK379U

产品规格：50T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
ES379	60 mL×1 瓶	4℃保存；
AK379-A	30 mL×1 瓶	4℃保存；
AK379-B	粉剂×1 瓶	-20℃保存；临用前加入 15mL 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 瓶	4℃保存；临用前加入 3mL 水溶解待用。
AK379-D	3mL×1 瓶	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，将有毒的甲醛氧化，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、低温离心机、恒温培养箱/水浴锅、可调式移液器、1mL 石英比色皿、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. 分光光度计预热 30min，调节波长至 340nm，蒸馏水调零。
2. 操作表（在比色皿中加入如下试剂）

试剂名称	测定管（ μ L）
样本	100
AK379-A	550
AK379-B	250
AK379-C	50
AK379-D	50

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。

$$\text{FDH 酶活 (nmol/min/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 322 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

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。

$$\text{FDH 酶活 (nmol/min/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 322 \times \Delta A \div W$$

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。

$$\text{FDH 酶活 (nmol/min/10}^4\text{cell)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量 (万个)}) \div T = 322 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

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。

$$\text{FDH 酶活 (nmol/min/mL)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \div V_{\text{样}} \div T = 322 \times \Delta A$$

注: ϵ : NADH 微摩尔消光系数, 6.22×10^{-3} L/ $\mu\text{mol/cm}$; d: 比色皿光径, 1cm; V_{反总}: 反应体系总体积, 1mL; V_样: 反应体系中样本体积, 0.1mL; 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](#))