

CheKine™ 甲醛脱氢酶（FDH）活性检测试剂盒（微量法）

Cat #: KTB3033

Size: 48 T/48 S 96 T/96 S

	甲醛脱氢酶（FDH）检测试剂盒（微量法）		
REF	货号：KTB3033	LOT	批号：见产品标签
	适用样本：动植物组织、细胞、血清（浆）或其他液体		
	保质期：-20℃避光保存 6 个月		

原理

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（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。FDH 催化甲醛和 NAD⁺产生 NADH，在 340 nm 处的吸光值会增加，测定 340 nm 处的吸光值变化，可计算得到 FDH 的活性。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	60×2 mL	4℃
Reagent I	7.5 mL	15 mL	4℃
Reagent II	Powder×1 vial	Powder×1 vial	-20℃
Reagent III	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃，避光保存
Reagent IV	0.75 mL	1.5 mL	4℃，避光保存

注意：正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。

自备耗材

- 酶标仪或紫外分光光度计（能测 340 nm 处的吸光度）
- 96 孔 UV 板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头
- 恒温水浴锅、制冰机、离心机
- 去离子水
- 匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

Extraction Buffer: 即用型；使用前，平衡到室温。4℃保存。

Reagent I : 即用型；使用前，平衡到室温。4℃保存。

Reagent II : 临用前配制；48 T 加入 3 mL 去离子水，96 T 加入 6 mL 去离子水，充分溶解待用。用不完的试剂-20℃分装保存一个月。

Reagent III: 临用前配制；48 T 加入 0.75 mL 去离子水，96 T 加入 1.5 mL 去离子水，充分溶解待用。用不完的试剂 4℃避光可保存一个月。

Reagent IV: 即用型；使用前，平衡到室温。4℃避光保存。

注意：Reagent IV 有刺激性气味，建议在通风橱进行实验。

样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

1. 组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，10,000 g，4℃离心 20 min，取上清液，置冰上待测。
2. 细胞：收集 500 万细胞到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴超声波破碎细胞 3 min（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），然后 10,000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
3. 血清（浆）等液体样本：直接测定。若溶液有浑浊则离心后取上清进行测定。

注意：如需测定蛋白浓度，推荐使用 Abbkine 货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或紫外分光光度计预热 30 min，调节波长到 340 nm。紫外分光光度计用去离子水调零。
2. 操作表（下述操作在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中进行）：

试剂	测定孔 (μL)
样本	20
Reagent I	110
Reagent II	50
Reagent III	10
Reagent IV	10

充分混匀，于 340 nm 处测定初始吸光值 A_1 与 30 min 后的吸光值 A_2 ，计算 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

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，若样本数量较多，可将试剂按比例配成工作液使用。如果 ΔA 小于 0.01 可适当加大样本量或适当延长反应时间（比如反应 60 min）。如果 ΔA 大于 1.0，样本可用 Extraction Buffer 进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

注意：我们为您提供的计算公式，包括推导过程计算公式和简洁计算公式。两者完全相等。建议以加粗的简洁计算公式为最终计算公式。

A. 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式如下

(1) 按样本蛋白浓度计算：

酶活单位定义：每 mg 蛋白每分钟催化生成 1 nmol NADH 的酶量为 1 个酶活单位。

$$\text{FDH (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 128.6 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本质量计算：

酶活定义：每 g 样品每分钟催化生成 1 nmol NADH 的酶量为 1 个酶活单位。

$$\text{FDH (U/g 鲜重)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 128.6 \times \Delta A \div W$$

(3) 按照细胞数量计算:

酶活定义: 每 10^4 个细胞每分钟催化生成 1 nmol NADH 的酶量为 1 个酶活单位。

$$\text{FDH (U/}10^4 \text{ cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times 500 \div V_{\text{样总}}) \div T = 128.6 \times \Delta A \div 500$$

(4) 按液体体积计算:

酶活定义: 每 mL 样本每分钟催化生成 1 nmol NADH 的酶量为 1 个酶活单位。

$$\text{FDH (U/mL)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 128.6 \times \Delta A$$

ϵ : NADH 微摩尔消光系数, 6.22×10^3 L/mol/cm; d : 96 孔 UV 板光径, 0.5 cm; $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 0.2 mL; $V_{\text{样}}$: 反应体系中样本体积, 0.02 mL; $V_{\text{样总}}$: 加入 Extraction Buffer 体积, 1 mL; C_{pr} : 样本蛋白浓度, mg/mL; W : 样本质量, g; T : 反应时间, 30 min; 500: 细胞总数, 5×10^6 。

B. 使用微量石英比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中光径 d : 0.5 cm 调整为 d : 1 cm 进行计算即可。

注意事项

1. Reagent IV 有毒性, 实验时请佩戴口罩手套等防护措施。

结果展示

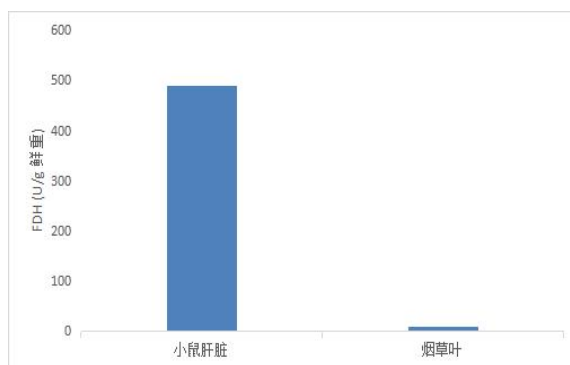


Figure 1. 本试剂盒测定小鼠肝脏和烟草叶中 FDH 的活性

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTB1015	CheKine™ α -葡萄糖苷酶活性检测试剂盒 (微量法)
KTB1121	CheKine™ 丙酮酸 (PA) 含量检测试剂盒 (微量法)

免责声明

本产品仅供科学研究使用, 不适用于临床诊断。为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。