

甲醛脱氢酶（FDH）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1009

保存：-20℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：动物组织、细胞、细菌、血清（浆）等液体样本

产品简介

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。本试剂盒提供了一种简单的检测方法检测生物样本中甲醛脱氢酶（FDH）的活性水平。其原理是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。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
提取液	50mL	100mL	4℃ 保存
试剂一	7.5mL	15mL	4℃ 保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	-20℃ 避光保存
试剂三	粉剂×1 支	粉剂×1 支	4℃ 保存
试剂四	0.75mL	1.5mL	4℃ 避光保存

自备耗材

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

试剂准备

提取液：即用型；4℃ 保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

试剂二：临用前 48T 加入 3mL 去离子水，96T 加入 6mL 去离子水，溶解待用。用不完的试剂分装后-20℃ 保存，避免反复冻融。

试剂三：临用前 48T 加入 0.75mL 去离子水，96T 加入 1.5mL 去离子水溶解待用。用不完的试剂可 4℃ 保存一周，或分装后-20℃ 保存，避免反复冻融。

试剂四：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 避光保存。

工作液：临用前按样本数量，每孔配制 180μL 工作液，现配现用。吸取 110μL 试剂一，50μL 试剂二，10μL 试剂三，10μL 试剂四，充分混匀。

样本制备

组织样本：称取 0.1g 组织加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆。匀浆液于 4℃，10,000g 离心 20min。取上清，置于冰上待测。

产品说明书

细胞和细菌样本：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，低速 600g 离心 5min，弃上清液，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎 5min（功率 20% 或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 4℃，10,000g 离心 10min，取上清，置冰上待测。

血浆、血清等液体样本：直接测定，根据预实验确定稀释倍数。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存一个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒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 30min 以上，调节波长到 340nm，紫外分光光度计去离子水调零。
2. 工作液置于 37℃ 预热 30min。
3. 样本测定：在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入 20 μL 样本，180 μL 工作液。充分混匀，立刻记录 340nm 处初始吸光值 A_1 ，37℃ 准确孵育 5min，记录 5min 时的吸光度 A_2 。计算 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

注意：1. 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 ΔA 小于 0.001 可适当加大样本量；如果 ΔA 大于 0.5，可用提取液稀释样品，计算时结果乘以稀释倍数。

2. 测定反应的温度对测定结果有影响，请控制在 37℃。
3. 因通过反应速率计算酶活，使用 96 孔 UV 板时请根据操作速度控制一次测定的样本数（通常一次测定 4-8 个样本）。

结果计算

FDH 酶活计算

A. 使用 96 孔板测定的计算公式

1. 按样本质量计算：

酶活定义：每克样品在反应体系中每分钟催化还原 1nmol NAD⁺ 的酶量为 1 个酶活单位。

FDH 酶活 (U/g 鲜重) = $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \div T = 643 \times \Delta A \div W$

2. 按蛋白浓度计算：

酶活定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化还原 1nmol NAD⁺ 的酶量为 1 个酶活单位。

FDH 酶活 (U/mg prot) = $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 643 \times \Delta A \div Cpr$

3. 按细菌或细胞数量计算：

单位的定义：每 10^4 个细菌或细胞在反应体系中每分钟催化还原 1nmol NAD⁺ 的酶量为 1 个酶活单位。

FDH 酶活 (U/ 10^4 Cells) = $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \div T = 1.286 \times \Delta A$

4. 按液体体积计算：

单位的定义：每 mL 液体样本在反应体系中每分钟催化还原 1nmol NAD⁺ 的酶量为 1 个酶活单位。

FDH 酶活 (U/mL) = $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 643 \times \Delta A$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm； d ：96 孔板光径，0.5cm； 10^9 ：1 mol = 10^9 nmol； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02mL； $V_{\text{提取}}$ ：加入提取液体积，1mL； T ：反应时间，5min； Cpr ：样本蛋白质浓度，mg/mL； W ：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500 万个。

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 ：0.5cm 调整为 d ：1cm 进行计算即可。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1001 乳酸脱氢酶 (LDH) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1010 乙醛脱氢酶 (ALDH) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1007 乙醇脱氢酶 (ADH) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

