

胆碱脱氢酶（CDH）活性测定试剂盒说明书

（货号：G0936F 分光法 48 样）

一、产品简介：

胆碱脱氢酶（CDH,EC 1.1.99.1）是一种关键的氧化还原酶，它催化胆碱氧化代谢的第一步，也是甜菜碱合成途径中的关键步骤。甜菜碱在细胞中扮演着至关重要的渗透调节和甲基供体的角色。

胆碱脱氢酶(CDH)催化胆碱氧化，通过电子传递将细胞色素C从氧化态转换为还原态，通过在549nm处检测还原型细胞色素C的增加量进而计算得出胆碱脱氢酶(CDH)的活性大小。

反应方程式：胆碱 + 电子受体（氧化型）→ 甜菜碱醛 + 电子受体（还原型）

二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 30mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉体 mg×2 支	4℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部，每支加 1.2mL 的蒸馏水溶解备用，可分装冻存。
试剂三	粉体 mg×4 支	4℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部，每支加 1.2mL 的蒸馏水溶解备用，可分装冻存。

三、所需仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、天平、移液器、研钵、水浴锅、低温离心机。

四、胆碱脱氢酶（CDH）活性测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品和实验流程，避免样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 组织样本：

取约 0.1g 组织样本（水分充足的样本建议取 0.2g 左右），加 1mL 的提取液冰浴匀浆，12000rpm，4℃离心 10min，上清液待测。

【注】：若增加样本量，可按照取样质量(g):提取液(mL)为 1~2:10 的比例进行提取。

② 细胞/细菌样本：

先收集细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 500 万细胞/细菌加入 1mL 提取液研磨，超声波破碎细胞/细菌（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000rpm，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细胞数量(10^4):提取液(mL)为 500~1000:1 的比例进行提取。

2、上机检测：

① 可见分光光度计预热 30min，设定波长到 549nm，蒸馏水调零。

② 在 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管
样本	200
试剂一	480
试剂二	40
试剂三	80
混匀, 立即于 549nm 下读取吸光值 A1, 25°C 孵育 10min 后读取吸光值 A2, $\Delta A = A2 - A1$ 。	

【注】：若 ΔA 值小于 0.01, 则延长反应时间 T (如延长至 20min 或 30min 后读取 A2), 或增加取样质量 W, 则改变后的 T 和 W 需代入公式重新计算。

五、结果计算：

1、按样本鲜重计算：

酶活定义: 每克组织每分钟还原 1nmol 细胞色素 C 所需的酶量为一个酶活单位 U。

$$CDH(nmol/min/g \text{ 鲜重}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6] \div (W \times V1 \div V) \div T = 20.94 \times \Delta A \div W \times D$$

2、按样本蛋白浓度计算：

酶活定义: 每毫克组织蛋白每分钟还原 1nmol 细胞色素 C 所需的酶量为一个酶活单位 U。

$$CDH(nmol/min/mg \text{ prot}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6] \div (Cpr \times V1 \div V) \div T = 20.94 \times \Delta A \div Cpr \times D$$

3、按细胞数量计算：

酶活定义: 每 10^4 个细胞每分钟还原 1nmol 细胞色素 C 所需的酶量为一个酶活单位 U。

$$CDH(nmol/min/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.042 \times \Delta A \times D$$

4、按液体体积计算：

酶活定义: 每毫升液体每分钟还原 1nmol 细胞色素 C 所需的酶量为一个酶活单位 U。

$$CDH(nmol/min/mL) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6] \div (V1 \div V) \div T = 20.94 \times \Delta A \times D$$

V---提取液体积, 1mL;

V2---反应体系总体积, $0.8 \text{ mL} = 8 \times 10^{-4} \text{ L}$;

W---样本质量, g;

ϵ ---细胞色素 C 摩尔消光系数, 19.1 L/mmole/cm d---光径, 1cm;

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL, 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。

V1---加入样本体积, 0.2mL;

T---反应时间, 10min;

500---细胞数量, 万;