

Betaine aldehyde dehydrogenase (BADH) activity assay kit

甜菜碱醛脱氢酶 (BADH) 活性测定试剂盒说明书

货号: G0176W | 方法: 微板法 | 规格: 48 样

一、产品简介:

甜菜碱醛脱氢酶 (BADH) 是植物、微生物等生物体中甜菜碱合成途径的关键酶, 催化甜菜碱醛氧化生成甘氨酸甜菜碱。该酶在生物抵抗盐、干旱等非生物胁迫中扮演重要角色。

甜菜碱醛脱氢酶 (BADH) 催化甜菜碱醛和 NAD^+ 反应生成 NADH ; 生成的 NADH 与显色剂反应生成黄色物质, 该有色物质在 450nm 处有特征光吸收。本试剂盒通过检测该有色物质在 450 nm 处吸光度的增加速率来计算 BADH 酶活性大小。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液 A	提取液 120mL×1 瓶	4°C 保存	
提取液 B	粉体 35g×1 瓶	4°C 保存	
试剂一	液体 6mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂二	粉体 mg×1 支	4°C 保存	使用前甩几下使试剂落入底部, 再加 1.2mL 蒸馏水, 混匀溶解备用。
试剂三	液体 1mL×1 支	-20°C 保存	可分装冻存。
试剂四	液体 0.6mL×1 支	4°C 保存	
标准品	粉体 mg×1 支	4°C 保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、水浴锅、天平、研钵或匀浆器、蒸馏水。

四、甜菜碱醛脱氢酶 (BADH) 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: 称取约 0.2g 组织, 加入 1mL 提取液 A, 进行冰浴匀浆, 4°C × 12000 rpm, 离心 10min, 取全部上清液约 1mL 至一新 EP 管中, 提 B 分 10 次加入 (每次约 50mg), 混匀后低温静置 30min (间隔 5min 晃下), 4°C × 12000 rpm, 离心 10min, 弃上清留沉淀, 向沉淀中加入 0.5mL 提取液溶解, 4°C × 12000 rpm, 离心 10min, 上清置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例进行提取。

② 细菌/细胞样本: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000rpm 4°C 离心 10min, 取全部上清液约 1mL 至一新 EP 管中, 提 B 分 10 次加入 (每次约 50mg), 混匀后低温静置 30min (间隔 5min 晃下), 4°C × 12000 rpm, 离心 10min, 弃上清留沉淀, 向沉淀中加入 0.5mL 提取液溶解, 4°C × 12000 rpm, 离心 10min, 上清置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/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 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 450nm。
- ② 试剂可于 37°C 条件下水浴 5-15min。
- ③ 在 96 孔板中依次加入:

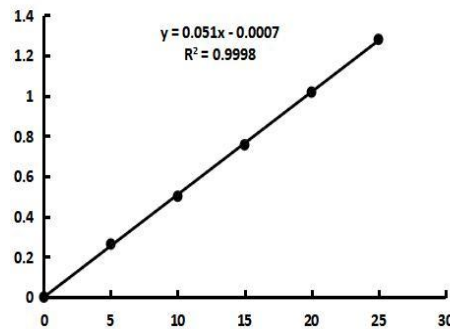
试剂名称(μL)	测定管
样本	50
试剂一	100
试剂二	20
试剂三	20
试剂四	10

混匀，立即于 450nm 下读取各管吸光值 A1，37℃ 孵育 30min 后，再读取各管吸光值 A2， $\Delta A=A2-A1$ 。

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标准曲线： $y = 0.051x - 0.0007$ ，x 是标准品(nmol)，y 是 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按样本质量计算：

定义：每克组织每小时催化底物产生 1 nmol NADH 的量为一个酶活力单位。

$$\text{BADH}(\text{nmol/h/g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0007) \div 0.051] \div (W \times V1 \div V) \div T = 392.2 \times (\Delta A + 0.0007) \div W$$

3、按蛋白浓度计算：

定义：每毫克组织蛋白每小时催化底物产生 1 nmol NADH 的量为一个酶活力单位。

$$\text{BADH}(\text{nmol/h/mg prot}) = [(\Delta A + 0.0007) \div 0.051] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T = 392.2 \times (\Delta A + 0.0007) \div \text{Cpr}$$

4、按细胞数量计算：

酶活定义：每 10^4 个细胞每小时催化底物产生 1 nmol NADH 的量为一个酶活力单位。

$$\text{BADH}(\text{nmol/h}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0007) \div 0.051] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.784 \times (\Delta A + 0.0007)$$

V--提取液复溶体积，0.5mL；

V1---加入样本体积，0.05mL；

T--反应时间，1/2 小时；

W--样本鲜重，g； 500---细胞数量，万；

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。