

## 甲酸脱氢酶(Formate dehydrogenase, FDH)试剂盒说明书

(货号: G0445F 紫外法 48 样)

### 一、产品简介:

甲酸脱氢酶(FDH, EC 1.2.1.2)属于 D-2-羧基酸脱氢酶类, 广泛应用于辅酶 NADH 的再生中。

本试剂盒利用甲酸脱氢酶(FDH)催化甲酸和 NAD<sup>+</sup>不可逆反应生成二氧化碳和 NADH, 通过检测 NADH 在 340nm 的生成速率, 进而计算出甲酸脱氢酶(FDH)活性大小。

### 二、试剂盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	粉剂 mg×2 支	4°C保存	用前甩几下或离心使试剂落入底部, 每支再加 0.6mL 蒸馏水溶解。
试剂二	粉剂 mg×2 支	4°C保存	用前甩几下或离心使试剂落入底部, 每支再加 0.6mL 蒸馏水溶解。
试剂三	液体 35mL×1 瓶	4°C保存	

### 三、所需的仪器和用品:

紫外分光光度计、1mL 石英比色皿 (光径 1cm)、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

### 四、甲酸脱氢酶(FDH)活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

#### 1、样本制备:

① 组织样本: 称取约 0.1g 组织 (水分充足的样本可取 0.25g), 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆。4°C×12000rpm 离心 10min, 取上清, 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/培养细胞: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照细菌或细胞数量 (10<sup>4</sup> 个): 建议 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 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000rpm, 4°C 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照数量 (10<sup>4</sup> 个): 提取液体积为 500~1000: 1 的比例进行提取

③ 液体样本: 直接检测。若浑浊, 离心后取上清检测。

#### 2、上机检测:

① 紫外分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 340nm, 蒸馏水调零。

② 试剂解冻至室温 (25°C) 或于 25°C 水浴中孵育 10min;

③ 在 1mL 石英比色皿 (光径 1cm) 中按照下表依次加入试剂:

试剂名称 (μL)	测定管
样本	60
试剂一	20
试剂二	20
试剂三	620
混匀, 立即于 340nm 处读取 A1, 35°C 条件下孵育 10min 后读取 A2, $\Delta A = A2 - A1$ 。	



## 五、结果计算：

### 1、按样本鲜重计算：

酶活定义：每克组织样本每分钟生成 1nmol NADH 的酶量为 1 个酶活单位。

$$\text{FDH}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 重量}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_2] \div (V_1 \times W) \div T = 193 \times \Delta A \div W$$

### 2、按样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟生成 1nmol NADH 的酶量为 1 个酶活单位。

$$\text{FDH}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_2] \div (V_1 \times \text{Cpr}) \div T = 193 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

### 3、按细菌/细胞密度计算：

酶活定义：每一万个细菌/细胞每分钟生成 1 nmol NADH 的酶量为 1 个酶活单位。

$$\text{FDH}(\text{nmol}/\text{min}/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \times V_2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_1 \div V) \div T = 193 \times \Delta A \div 500$$

### 4、按液体体积计算：

酶活定义：每毫升液体样本每分钟生成 1nmol NADH 的酶量为 1 个酶活单位。

$$\text{FDH 酶活}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}) = [\Delta A \times V_2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_1 \div T = 193 \times \Delta A$$

V1---加入样本体积，0.06mL；

V---加入提取液体积，1mL；

V2---反应体系总体积，7.2×10<sup>-4</sup> L；

d---光径，1cm；

500---细菌或细胞总数，万；

W---样本质量，g；

ε---NADH 摩尔消光系数，6.22×10<sup>3</sup> L/mol/cm； T---反应时间，10min；

Cpr---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。