

Formate dehydrogenase Assay Kit

甲酸脱氢酶(FDH)试剂盒说明书

货号: G0445W | 方法: 微板法 | 规格: 96 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⁺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 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂 mg×2 支	4℃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℃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 20mL×1 瓶	4℃保存	

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、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℃×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 (10⁴ 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℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照数量 (10⁴ 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 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 340nm。
② 试剂解冻至室温 (25℃) 或于 25℃水浴中孵育 10min;
③ 在 96 孔板中按照下表依次加入试剂:

试剂名称 (μL)	测定管
样本	20
试剂一	10
试剂二	10
试剂三	160
混匀, 立即于 340nm 处读取 A1, 35℃条件下孵育 10min 后读取 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、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。

$$\text{FDH}(\text{nmol/min/g 重量}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_2] \div (V_1 \times W) \div T = 321.5 \times \Delta A \div W$$

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。

$$\text{FDH}(\text{nmol/min/mg prot}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_2] \div (V_1 \times \text{Cpr}) \div T = 321.5 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

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。

$$\text{FDH}(\text{nmol/min}/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \times V_2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_1 \div V) \div T = 321.5 \times \Delta A \div 500$$

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。

$$\text{FDH 酶活}(\text{nmol/min/mL}) = [\Delta A \times V_2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_1 \div T = 321.5 \times \Delta A$$

V1---加入样本体积，0.02mL；

V2---反应体系总体积，2×10⁻⁴ L；

500---细菌或细胞总数，万；

ε---NADH 摩尔消光系数，6.22×10³ L/mol/cm；

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。

V---加入提取液体积，1mL；

d---96 孔板光径，0.5cm；

W---样本质量，g；

T---反应时间，10min；