

胆碱脱氢酶（CDH）活性测定试剂盒说明书

（货号：G0936W 微板法 96 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 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 15mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉体 mg×1 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×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。

三、所需仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、天平、移液器、研钵、水浴锅、低温离心机、蒸馏水。

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 酶标仪预热 30min，设定波长到 549nm。

② 所有试剂解冻至室温（25℃）或水浴锅（25℃）孵育 10-15min。

③ 在 96 孔板中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管
样本	50
试剂一	120
试剂二	10
试剂三	20
混匀，立即于 549nm 下读取吸光值 A1，25℃ 孵育 10min 后读取吸光值 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。

$$CDH(\text{nmol/min/g 鲜重}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6] \div (W \times V1 \div V) \div T = 41.88 \times \Delta A \div W \times D$$

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。

$$CDH(\text{nmol/min/mg prot}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6] \div (Cpr \times V1 \div V) \div T = 41.88 \times \Delta A \div Cpr \times D$$

3、按细胞数量计算：

酶活定义：每 10⁴ 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。

$$CDH(\text{nmol/min}/10^4 \text{cell}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.084 \times \Delta A \times D$$

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。

$$CDH(\text{nmol/min/mL}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6] \div (V1 \div V) \div T = 41.88 \times \Delta A \times D$$

V---提取液体积，1mL；

V1---加入样本体积，0.05mL；

V2---反应体系总体积，0.2 mL=2×10⁻⁴L；

T---反应时间，10min；

W---样本质量，g；

500---细胞数量，万；

ϵ ---细胞色素 C 摩尔消光系数，19.1 L/mmole/cm d---光径，0.5cm；

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。