

植物甲醛脱氢酶（FALDH）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AYHD3-C24	植物甲醛脱氢酶（FALDH）活性检测 试剂盒说明书	24T	常量法
AYHD3-C48		48T	

一、测定意义：

FALDH的测定在植物甲醛代谢、环境适应性、生物技术、生理病理研究及生态毒理学等领域具有重要应用价值，有助于深入理解植物对甲醛的响应机制，并为环境修复和生物技术开发提供支持。

二、测定原理：

甲醛脱氢酶(Formaldehyde Dehydrogenase, FALDH)催化甲醛氧化生成甲酸并伴随 NAD⁺还原为 NADH 的反应。实验通过检测 NADH 在 340 nm 处的吸光度变化来定量酶活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体 50mL×1 瓶	液体 100mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂一	液体 24mL×1 瓶	液体 48mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	-20°C保存
试剂二：用时每瓶粉剂加入蒸馏水 5mL，混匀充分溶解，现用现配。			
试剂三	液体 1.5mL×1 支	液体 1.5mL×2 支	2-8°C保存

四、操作步骤：

样本前处理

- 1、组织：按照组织质量（g）:提取液(mL)为1:10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4°C离心 10 min，取上清置冰上待测。
- 2、细菌、细胞：按照细胞数量 10⁴ 个: 提取液体积（mL）500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），5000 rpm，4°C离心 10min，取上清置冰上待测。

测定步骤

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至340nm，蒸馏水调零。
2. 测定前将试剂恢复至常温；
3. 操作表（在离心管中加入以下试剂）：

	测定管	空白管
样品 (μL)	100	-
试剂一 (μL)	850	950
试剂二 (μL)	100	100
试剂三 (μL)	50	50
混合均匀, 记录 340nm 处 20s 时吸光值 A1 和 5min20s 时的吸光值 A2, 计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ 。 $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$; $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。(空白管只做 1-2 管)		

四、植物甲醛脱氢酶 (FALDH) 活性计算:

1、组织样本植物甲醛脱氢酶 (FALDH) 计算

(1) 按样本鲜重计算:

单位定义: 每克组织每分钟生成 1nmol NADH 为一个酶活力单位。

$$\text{FALDH (U/min/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = \Delta A \times 0.16 \times 10^3 \div W$$

(2) 按样本蛋白浓度计算:

单位定义: 每毫克蛋白每分钟生成 1nmol NADH 为一个酶活力单位。

$$\text{FALDH (U/min/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = \Delta A \times 0.16 \times 10^3 \div C_{\text{pr}} = \Delta A \times 0.322$$

V 反总: 反应体系总体积, 1.1×10^{-3} L;

ε: NADH, 6.22×10^3 L/mol/cm;

d: 比色皿光径, 1cm;

V 样: 加入样本体积, 0.1mL;

V 样总: 加入提取液体积, 1mL;

T: 反应时间, 5min;

Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL;

10⁹: 单位换算系数, 1mol=10⁹nmol;

W: 样本质量, g;

五、注意事项:

1、实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测;