

# (Fumarate Hydratase)

4 8

\_\_\_\_\_ :

EC 4.2.1.2

L- L-

NAD+ NADH NADH 340nm

\_\_\_\_\_ :

试剂一	液体 60mL×1 瓶	-20°C保存	
试剂二	液体 15mL×1 瓶	-20°C保存	
试剂三	液体 0.5mL×1 瓶	-20°C保存	
试剂四	粉体 mg×1 支	-20°C保存	临用前甩几下使粉剂落入底部，再加 3.2mL 蒸馏水溶解，可分装保存。
试剂五	粉体 mg×1 支	-20°C保存	临用前甩几下使粉剂落入底部，再加 1.7mL 蒸馏水溶解，-20°C保存。
试剂六	液体μL×1 支	-20°C保存	临用前甩几下使试剂落入底部，再加 1.6mL 蒸馏水溶解，-20°C保存。

试剂七	液体 12mL×1 瓶	4°C保存	
试剂八	液体 mL×1 支	4°C保存	

\_\_\_\_\_ :

1mL 1cm

\_\_\_\_\_ :

1 \_\_\_\_\_ 4

0.1g 500 1mL

4 × 700g 10min

4 × 12000g 10min

200μL 2μL 20

200W 3s 10 30

[ ] (g) (mL) 1 5~10

(10) (mL) 500~1000 1

2 \_\_\_\_\_

30min 340nm

25

1mL 1cm

μL	
样本	60
试剂四	60
试剂五	30
试剂六	30
试剂七	490
混匀，37°C 孵育 20min。	
试剂八	30
混匀，立即于 340nm 下读取各管吸光值 A1，37°C 孵育 30min 后读取 A2， $\Delta A=A2-A1$ 。	

[ ] 1.

30μL

V1

2. A

T

60min

V1

100μL

T

V1

\_\_\_\_\_ :

1

37

1 nmol NADH

$$(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [ A \times V2 \div ( \times d ) \times 10 ] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T$$

$$= 62.5 \times A \div \text{Cpr}$$

2

37 1 nmol NADH

$$(\text{nmol/min/g}) = [A \times V_2 \div (\epsilon \times d) \times 10] \div (W \times V_1 \div V) \div T = 12.6 \times A \div$$

W

3 /

$$(\text{nmol/min/10 cell}) = [A \times V_2 \div (\epsilon \times d) \times 10] \div (500 \times V_1 \div V) \div T = 0.025 \times$$

A

V1--- 0.06 mL V--- 0.202 mL

V2---  $7 \times 10^{-3}$  L d--- 1cm

T--- 30 min W--- g

---NADH  $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$  500---

Cpr--- mg/mL BCA