

## NAD-苹果酸脱氢酶(NAD-MDH)活性检测试剂盒 (线粒体和胞质) 微板法

产品编号	产品名称	包装规格
NBS8105-96T	NAD-苹果酸脱氢酶(NAD-MDH)活性检测试剂 盒(线粒体和胞质) 微板法	96T

### 产品简介:

苹果酸脱氢酶广泛存在于动植物、微生物和培养细胞中, 依据需要的辅酶不同, 可分为: NAD-MDH 和 NADP-MDH, 前者主要存在于线粒体和胞质中, 后者存在于某些微生物和植物叶绿体中; 苹果酸脱氢酶与多条生理代谢途径密切相关: 线粒体的能量代谢、苹果酸-天冬氨酸穿梭系统、活性氧代谢和抗病性等。

NAD-MDH(EC1.1.1.37)催化 NADH 还原草酰乙酸生成苹果酸, 使 NADH 在 340nm 处光吸收下降, 进而通过 340nm 处光吸收的下降速率计算得到 NAD-MDH 的酶活性大小。

### 保存条件:

-20℃保存, 三个月有效。

### 产品组成:

组分	规格	保存	备注
提取液	100mL×1 瓶	2-8℃保存	
试剂一	粉末×2 支	-20℃保存	用前甩几下或离心使粉剂落入底部, 每支分别加 0.9mL 蒸馏水溶解备用。用不完的试剂-20℃分装后保存, 禁止反复冻融, 三天内用完。
试剂二	18mL×1 瓶	2-8℃保存	
试剂三	粉末×2 支	-20℃保存	用前甩几下或离心使试剂落入底部, 再分别加 0.9mL 蒸馏水溶解备用。三天内用完。

## 产品使用:

建议正式实验前, 选取 2 个样本做预测定, 了解实验样品情况, 熟悉流程, 避免样本和 试剂浪费!

### 一、样本准备

#### 1. 组织样本:

(a) 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆;

(b) 12000rpm, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例提取

#### 2. 细菌/细胞样本:

(a) 先收集细胞或细菌到离心管内, 离心后弃上清;

(b) 取  $5 \times 10^6$  个细胞或细菌加入 1mL 提取液, 超声波破碎细胞或细菌 (冰浴, 功率 200w, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次);

(c) 12000rpm, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按每  $0.5 \sim 1 \times 10^7$  个细菌数量加入 1mL 提取液的比例进行提取。

### 二、样品测定

1. 酶标仪预热 30min, 设定波长到 340nm。

2. 测定前将溶解好的试剂一在 25℃水浴中孵育 10min 以上。

3. 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管
样本	40
试剂一	60
试剂二	640
试剂三	60
混匀, 30℃下立即于 340nm 下读取 A1, 1min 后读取 A2, $\Delta A = A1 - A2$ 。	

【注】: 1. 若  $\Delta A$  在零附近, 可延长反应时间 T (如增至 10min) 读取 A2; 或加大样本量 V1 (如增至 30μL, 则试剂二相应减少)。改变后的反应时间 T 或 V1 需代入公式重新计算。

2. 若  $\Delta A$  大于 0.6 或 A2 的值小于 0.5, 需缩短反应时间 T (如减至 0.5min), 或减少样本量 V1 (如减至 5μL, 则试剂二相应增加), 则改变后的 T 和 V1 需代入公式重新计算。

3. 若起始值 A1 太大如超过 2 (颜色较深的植物叶片, 一般色素较高则起始值相对会偏高), 可减少 V1 (如减至 5μL, 则试剂二相应增加), 则改变后的 V1 代入公式重新计算。或向待测样

本中加少许活性炭混匀静置 5min 后 12000rpm,4℃离心 10min,上清液用于检测。

4. 若下降趋势不稳定,可以每隔 10S 读取一次吸光值,选取一段线性下降的时间段来参与计算,相对应的 A 值也代入公式重新计算。

### 三、结果计算

1. 按样本蛋白浓度计算:

酶活定义: 每毫克组织蛋白每分钟消耗 1nmolNADH 定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{NAD-MDH}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) &= [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T \\ &= 6430.9 \times \Delta A \div \text{Cpr}\end{aligned}$$

2. 按样本鲜重计算:

酶活定义: 每克组织在每分钟消耗 1nmolNADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{NAD-MDH}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V1 \div V) \div T = 6430.9 \times \Delta A \div W$$

3. 按细菌/细胞密度计算:

酶活定义: 每 10<sup>4</sup> 个细菌或细胞每分钟消耗 1nmolNADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{NAD-MDH}(\text{nmol}/\text{min}/10^4\text{cell}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 12.86 \times \Delta A$$

4. 按液体体积计算:

酶活定义: 每毫升液体每分钟消耗 1nmolNADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{NAD-MDH}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V1 \div T = 6430.9 \times \Delta A$$

V--提取液体积, 1mL

V1--加入样本体积, 0.01mL

V2--反应体系总体积, 2×10<sup>-4</sup>L

ε--NADH 摩尔消光系数, 6.22×10<sup>3</sup>L/mol/cm

d--光径, 0.5cm

W--样本质量, g

500--细胞数量, 万

T--反应时间, 1min

Cpr--蛋白浓度 (mg/mL)

### 注意事项:

1. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究, 不得用于医学诊断及其他用途!

**相关产品：**

产品编号	产品名称	包装规格
<u>NBS8089-48T</u>	<u>辅酶 I NAD<sup>+</sup>/NADH 含量测定试剂盒 分光法</u>	48T
<u>NBS8091-96T</u>	<u>辅酶 I NAD<sup>+</sup>/NADH 含量测定试剂盒 微板法</u>	96T
<u>NBS8092-48T</u>	<u>辅酶 II NADP<sup>+</sup>/NADPH 含量测定试剂盒 分光法</u>	48T
<u>NBS8093-96T</u>	<u>辅酶 II NADP<sup>+</sup>/NADPH 含量测定试剂盒 微板法</u>	96T
<u>NBS8094-100T</u>	<u>NAD<sup>+</sup>/NADH 检测试剂盒 (WST-8 法)</u>	100T
<u>NBS8095-100T</u>	<u>NADP<sup>+</sup>/NADPH 检测试剂盒 (WST-8 法)</u>	100T
<u>NBS8096-48T</u>	<u>NADH 氧化酶 (NOX) 活性检测试剂盒 分光法</u>	48T
<u>NBS8097-96T</u>	<u>NADH 氧化酶 (NOX) 活性检测试剂盒 微板法</u>	96T
<u>NBS8098-48T</u>	<u>NADH-谷氨酸脱氢酶 (NADH-GDH) 活性检测试剂盒 分光法</u>	48T
<u>NBS8099-96T</u>	<u>NADH-谷氨酸脱氢酶 (NADH-GDH) 活性检测试剂盒 微板法</u>	96T
<u>NBS8100-48T</u>	<u>NADH-谷氨酸合成酶 (NADH-GOGAT) 活性检测试剂盒 非绿色组织 分光法</u>	48T
<u>NBS8101-96T</u>	<u>NADH-谷氨酸合成酶 (NADH-GOGAT) 活性检测试剂盒 非绿色组织 微板法</u>	96T
<u>NBS8102-24T</u>	<u>NADPH 氧化酶 (NAO) 活性检测试剂盒 分光法</u>	24T
<u>NBS8103-48T</u>	<u>NADPH 氧化酶 (NAO) 活性检测试剂盒 微板法</u>	48T
<u>NBS8104-48T</u>	<u>NAD-苹果酸脱氢酶 (NAD-MDH) 活性检测试剂盒 (线粒体和胞质) 分光法</u>	48T
<u>NBS8105-96T</u>	<u>NAD-苹果酸脱氢酶 (NAD-MDH) 活性检测试剂盒 (线粒体和胞质) 微板法</u>	96T
<u>NBS8106-96T</u>	<u>NADP 苹果酸酶 (NADP-ME) 活性检测试剂盒 微板法</u>	96T