

## 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°C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°C保存	
试剂一	粉末×2 支	-20°C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°C 分装后保存，禁止反复冻融，三天内用完。
试剂二	18mL×1 瓶	2-8°C保存	
试剂三	粉末×2 支	-20°C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：

- 称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆；
- 12000rpm，4°C 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：

- 先收集细胞或细菌到离心管内，离心后弃上清；
- 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）；
- 12000rpm，4°C 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

- 酶标仪预热 30min，设定波长到 340nm。
- 测定前将溶解好的试剂一在 25°C 水浴中孵育 10min 以上。
- 在 96 孔板中依次加入：

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

- 【注】：1. 若  $\Delta\text{A}$  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  $30\mu\text{L}$ ，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  $\Delta\text{A}$  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  $5\mu\text{L}$ ，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  $5\mu\text{L}$ ，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°C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。

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

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。

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

3. 按细菌/细胞密度计算：

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

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

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。

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

V--提取液体积， 1mL

V1--加入样本体积， 0.01mL

V2--反应体系总体积，  $2 \times 10^{-4}$ L

$\varepsilon$ --NADH 摩尔消光系数，  $6.22 \times 10^3$ 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
NBS8089-48T	辅酶 I NAD+/NADH 含量测定试剂盒 分光法	48T
NBS8091-96T	辅酶 I NAD+/NADH 含量测定试剂盒 微板法	96T
NBS8092-48T	辅酶 II NADP+/NADPH 含量测定试剂盒 分光法	48T
NBS8093-96T	辅酶 II NADP+/NADPH 含量测定试剂盒 微板法	96T
NBS8094-100T	NAD+/NADH 检测试剂盒(WST-8 法)	100T
NBS8095-100T	NADP+/NADPH 检测试剂盒 (WST-8 法)	100T
NBS8096-48T	NADH 氧化酶(NOX)活性检测试剂盒 分光法	48T
NBS8097-96T	NADH 氧化酶(NOX)活性检测试剂盒 微板法	96T
NBS8098-48T	NADH-谷氨酸脱氢酶(NADH-GDH)活性检测试剂盒分光法	48T
NBS8099-96T	NADH-谷氨酸脱氢酶(NADH-GDH)活性检测试剂盒 微板法	96T
NBS8100-48T	NADH-谷氨酸合成酶(NADH-GOGAT)活性检测试剂盒 非绿色组织 分光法	48T
NBS8101-96T	NADH-谷氨酸合成酶(NADH-GOGAT)活性检测试剂盒 非绿色组织 微板法	96T
NBS8102-24T	NADPH 氧化酶(NAO)活性检测试剂盒 分光法	24T
NBS8103-48T	NADPH 氧化酶(NAO)活性检测试剂盒 微板法	48T
NBS8104-48T	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	48T
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
NBS8106-96T	NADP 苹果酸酶(NADP-ME)活性检测试剂盒 微板法	96T