

NAD-苹果酸脱氢酶活性测定试剂盒(分光光度法)

产品货号: BA3250

产品规格: 50T

产品简介:

MDH (EC1.1.1.37) 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中, 线粒体中MDH是TCA循环的关键酶之一, 催化苹果酸形成草酰乙酸; 相反, 胞浆中MDH催化草酰乙酸形成苹果酸。草酰乙酸是重要的中间产物, 连接多条重要的代谢途径。因此, MDH在细胞多种生理活动中扮演着重要的角色, 包括线粒体的能量代谢、苹果酸-天冬氨酸穿梭系统、活性氧代谢和抗病性等。根据不同的辅酶特异性, MDH分为NAD-依赖的MDH和NADP-依赖的MDH, 细菌中通常只含有NAD-MDH, 在真核细胞中, NAD-MDH分布于细胞质和线粒体中。NAD-MDH催化NADH还原草酰乙酸生成苹果酸, 导致340nm处光吸收下降。

试剂盒组分:

试剂名称	50T	保存要求
试剂一	1瓶	2-8℃
试剂二	1瓶	2-8℃
试剂三	2支	-20℃
试剂四	2支	-20℃

产品使用说明:

1. 样本处理:

1.1 细菌或培养细胞: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清, 按照细菌或细胞数量(10^4 个): 试剂一 体积(mL)为1000-5000: 1的比例 (建议2000万细菌或细胞加入1mL试剂一), 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率20%或200W, 超声3s, 间隔10s, 重复30次), 8000g 4℃离心10min, 取上清, 置冰上待测。

1.2 组织: 按照组织质量 (g): 试剂一 体积(mL)为1: 5~10的比例 (建议称取约0.1g组织, 加入1mL提取液), 进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心10min, 取上清, 置冰上待测。

1.3 血清 (浆) 样品: 直接检测。

2. 试剂准备

2.1 试剂三临用前加入300 μ L蒸馏水, 充分溶解待用, 用不完的试剂分装后-20℃保存, 禁止反复冻融。

2.2 试剂四临用前加入300 μ L蒸馏水, 充分溶解待用, 用不完的试剂分装后-20℃保存, 禁止反复冻融。

3. 测定步骤:

3.1 分光光度计预热30min以上, 调节波长至340nm, 蒸馏水调零。

3.2 将试剂二在37℃ (哺乳动物) 或25℃ (其它物种) 水浴10min以上。

3.3 在1mL石英比色皿中加入20 μ L样本、760 μ L试剂二、10 μ L试剂三、10 μ L试剂四, 混匀后立即记录340nm处记录初始吸光度A1和反应1min后的吸光度A2, 计算 $\Delta A = A1 - A2$ 。

注意: 若A1-A2大于0.5, 需将样本用提取液稀释, 使A1-A2小于0.5, 可提高检测灵敏度。计算公式中乘以相应稀释倍数。

4. NAD-MDH活性计算

4.1 血清(浆)NAD-MDH活力的计算

单位的定义: 每毫升血清(浆)每分钟消耗1nmol的NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{NAD-MDH (nmol/min/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 6430 \times \Delta A$$



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

4.2 按样本蛋白浓度计算

单位的定义：每mg组织蛋白每分钟消耗1nmol的NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{NAD-MDH}(\text{nmol/min/mg, prot}) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 6430 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

4.3 按样本鲜重计算

单位的定义：每g组织每分钟消耗1nmol的NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{NAD-MDH}(\text{nmol/min/g, 鲜重}) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 6430 \times \Delta A \div W$$

4.4 按细菌或细胞密度计算

单位的定义：每1万个细菌或细胞每分钟消耗1nmol的NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{NAD-MDH}(\text{nmol/min}/10^4\text{cell}) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (2000 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 3.215 \times \Delta A$$

V反总：反应体系总体积， $8 \times 10^{-4}\text{L}$ ； ϵ ：NADH摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3\text{L/mol/cm}$ ；d：比色皿光径，1cm；

V样：加入样本体积，0.02mL；V样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，1min；W：样本质量，g；

Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；2000：细胞或细菌总数，2000万。

注意事项：

1. 本试剂盒50T可测48样。

保存条件：

-20℃，6个月有效。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com