

NADP 苹果酸酶(NADP-ME)活性检测试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	包装规格
NBS8106-96T	NADP 苹果酸酶(NADP-ME)活性检测试剂盒 微板法	96T

产品简介:

苹果酸酶是生物体内重要的酶之一，广泛存在于动物、植物、细菌体中。是苹果酸代谢的关键酶。近年来植物 ME 活性测定较多，已经成为抗氧化研究的热点。该酶发挥作用需要辅酶因子的参与，依据辅酶因子的不同，分为 NADP-ME(EC1.1.1.40)和 NAD-ME(EC1.1.1.38)。

ME 的主要功能是催化苹果酸氧化脱羧产生丙酮酸和 CO₂，以及伴随 NADP⁺的还原反应，NADP-ME 催化 NADP⁺还原成 NADPH，本试剂盒通过检测 NADPH 在 340nm 处的增加速率即可得出 NADP-ME 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×1 支	-20℃保存	用前甩几下或离心使粉剂落入底部，加 1.1mL 蒸馏水溶解。
试剂二	20mL×1 瓶	2-8℃保存	
试剂三	粉末×1 支	2-8℃保存	用前甩几下或离心使粉剂落入底部，加 1.1mL 蒸馏水溶解。

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°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:

(a) 先收集细胞或细菌到离心管内, 离心后弃上清;

(b) 取 5×10^6 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°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。

3. 液体样本:

直接检测。若浑浊, 离心后取上清检测。

二、样品测定

1. 酶标仪预热 30min, 设定波长到 340nm。

2. 所有试剂在 25°C水浴中孵育 10min。

3. 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管
样本	10
试剂一	10
试剂二	170
试剂三	10

混匀, 立即于 340nm 下读取 A1, 室温 (25°C) 下, 3min 后读取 A2, $\Delta A = A2 - A1$ 。

【注】: 若 ΔA 过小, 可以延长反应时间 T (如: 10min 或更长), 或增加样本上样量 V1 (如增至 20uL, 则试剂二相应减少), 重新调整的 T 或 V1 需代入计算公式重新计算。

三、结果计算

1. 按样本蛋白浓度计算:

酶活定义: 25°C条件下, 每毫克组织蛋白每分钟生成 1nmolNADH 定义为一个酶活单位。

$$\text{NADP-ME}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [\Delta A \times V_2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_1 \times \text{Cpr}) \div T = 2143.6 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2. 按样本鲜重计算:

酶活定义: 25°C条件下, 每克组织蛋白每分钟生成 1nmolNADH 定义为一个酶活单位。

$$\text{NADP-ME}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [\Delta A \times V_2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_1 \div V) \div T = 2143.6 \times \Delta A \div W$$

3. 按细菌/细胞密度计算:

酶活定义: 25°C条件下, 每 10⁴ 个细菌/细胞每分钟生成 1nmolNADH 定义为一个酶活单位。

$$\text{NADP-ME}(\text{nmol}/\text{min}/10^4\text{cell}) = [\Delta A \times V_2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_1 \div V) \div T = 4.29 \times \Delta A$$

4. 按液体体积计算:

酶活定义: 25°C条件下, 每毫升液体每分钟生成 1nmolNADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{NADP-ME}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}) = [\Delta A \times V_2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_1 \div T = 2143.6 \times \Delta A$$

V--提取液体积, 1mL

V1--加入样本体积, 0.01mL

V2--反应体系总体积, 2×10⁻⁴L

d--光径, 0.5cm

ε--NADH 摩尔消光系数, 6.22×10³L/mol/cm

W--样本质量, g

500--细胞数量, 万

T--反应时间, 3min

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⁺/NADH 含量测定试剂盒 分光法</u>	48T
<u>NBS8091-96T</u>	<u>辅酶 I NAD⁺/NADH 含量测定试剂盒 微板法</u>	96T
<u>NBS8092-48T</u>	<u>辅酶 II NADP⁺/NADPH 含量测定试剂盒 分光法</u>	48T
<u>NBS8093-96T</u>	<u>辅酶 II NADP⁺/NADPH 含量测定试剂盒 微板法</u>	96T
<u>NBS8094-100T</u>	<u>NAD⁺/NADH 检测试剂盒 (WST-8 法)</u>	100T
<u>NBS8095-100T</u>	<u>NADP⁺/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