

## 细胞质异柠檬酸脱氢酶(NADP-IDH)试剂盒（微板法）

产品货号：BA2827

产品规格：96样

### 产品简介：

细胞质异柠檬酸脱氢酶即NADP-异柠檬酸脱氢酶(NADP-IDH,EC 1.1.1.42)普遍存在于真核及原核生物体内。是细胞质中除了磷酸戊糖途径外又一种NADPH来源的重要途径，在逆境中该酶活性通常会发生显著变化。

本试剂盒提供一种简单，灵敏，快速的测定方法：利用NADP-IDH催化NADP<sup>+</sup>产生NADPH，接着与特异的显色剂反应，产生在450nm处有最大吸收峰的可色物质，通过检测该有色物质在450nm的增加速率，进而计算出NADP-IDH酶活性的大小。

### 产品内容：

| 产品名称 | 规格         | 保存条件 | 备注                             |
|------|------------|------|--------------------------------|
| 提取液  | 液体100mL×1瓶 | 2-8℃ |                                |
| 试剂一  | 液体15mL×1瓶  | 2-8℃ |                                |
| 试剂二  | 粉剂mg×1瓶    | 2-8℃ | 临用前甩几下使粉剂落入底部，再加入2.2mL蒸馏水溶解备用。 |
| 试剂三  | 粉剂mg×1瓶    | 2-8℃ | 临用前甩几下使粉剂落入底部，再加入3.2mL蒸馏水溶解备用。 |
| 试剂四  | 液体1mL×1支   | 2-8℃ |                                |
| 标准品  | 粉剂mg×1支    | 2-8℃ | 若重新做标曲，则用到该试剂。                 |

### 所需的仪器和用品：

酶标仪、96孔板、可调式移液器、低温离心机、研钵、冰和蒸馏水。

### NADP-异柠檬酸脱氢酶（NADP-IDH）活性测定：

建议正式实验前选取2个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

#### 1. 样本制备：

##### (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℃离心15min，取上清，置冰上待测。

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

##### (2) 细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约500万细菌或细胞加入1mL提取液，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)；12000rpm 4℃离心15min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量( $10^4$ ):提取液(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

##### (3) 液体样本：澄清的液体直接检测；若浑浊则离心后取上清检测。

#### 2. 上机检测：

##### (1) 酶标仪预热30min以上，调节波长至450nm。

##### (2) 所有试剂解冻至室温（25℃），在96孔板中依次加入：



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

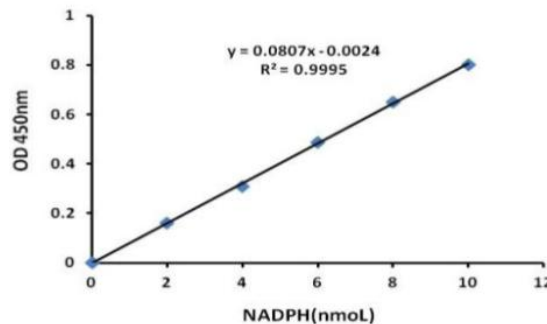
http://www.saint-bio.com

| 试剂名称(μL)                                                           | 测定管 |
|--------------------------------------------------------------------|-----|
| 样本                                                                 | 10  |
| 试剂一                                                                | 130 |
| 试剂二                                                                | 20  |
| 试剂三                                                                | 30  |
| 试剂四                                                                | 10  |
| 混匀，37℃条件下，3min时于450nm处读取A1，避光反应30min后读取A2值， $\Delta A = A2 - A1$ 。 |     |

【注】1. 若 $\Delta A$ 过小，可以延长反应时间(如:60min或更长)，或增加样本量(如30μL，则试剂一相应减少)。调整后的反应时间T或样本体积V1需代入计算公式重新计算。

#### 结果计算：

- 标准曲线方程： $y = 0.0807x - 0.0024$ ，x是NADPH摩尔质量：nmol，y是 $\Delta A$ 。



- 按样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟生成 1nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{NADP-IDH}(\text{nmol/min/mg prot}) = [(\Delta A + 0.0024) \div 0.0807] \div (V1 \times Cpr) \div T = 41.3 \times (\Delta A + 0.0024) \div Cpr$$

- 按样本鲜重计算：

酶活定义：每克组织每分钟生 1nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{NADP-IDH}(\text{nmol/min/g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0024) \div 0.0807] \div (W \times V1 \div V) \div T = 41.3 \times (\Delta A + 0.0024) \div W$$

- 按细菌或细胞密度计算：

酶活定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟生成 1nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{NADP-IDH}(\text{nmol/min}/10^4) = [(\Delta A + 0.0024) \div 0.0807] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.083 \times (\Delta A + 0.0024)$$

- 按液体体积计算：

酶活定义：每毫升液体样本每分钟生成 1nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{NADP-IDH}(\text{nmol/min/mL}) = [(\Delta A + 0.0024) \div 0.0807] \div V1 \div T = 41.3 \times (\Delta A + 0.0024)$$

V---加入提取液体积，1mL；V1---加入样本体积，0.01mL；W---样本质量，g；500---细菌或细胞总数，万。

T---反应时间，30min；若加大了反应时间，则重新调整的反应时间值要代入公式重新计算；Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL；建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。

#### 附：标准曲线制作过程：

- 制备标准品母液(1nmol/μL)：向标准品 EP 管里面加入 0.6mL 蒸馏水(母液需在两天内用且-20℃保存)。
- 把母液稀释成六个浓度梯度的标准品：0,0.2,0.4,0.6,0.8,1.nmol/μL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 依据加样表操作，根据结果即可制作标准曲线



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com