

NADP-苹果酸酶（NADP-ME）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHF8-C24	NADP-苹果酸酶活性检测试剂盒	24T	常量法
AMHF8-C48		48T	

一、测定意义：

NADP-苹果酸酶（NADP-ME）主要用于评估胞质中NADPH的生成与脂代谢稳态：其作为脂肪组织、乳腺等合成型组织中脂肪酸合成的关键NADPH供体，活性变化直接关联肥胖、脂肪肝等脂代谢紊乱疾病的发生发展，可作为解析脂类合成调控机制及代谢综合征的重要指标。

二、测定原理：

NADP-苹果酸酶催化下，反应体系中预先加入的还原型辅酶NADPH作为氢供体，参与苹果酸的可逆氧化脱羧反应，伴随自身氧化为NADP⁺；由于NADPH在340nm波长处具有特征性光吸收，而其氧化产物NADP⁺在此波长下无显著吸收，因此通过实时监测340nm处吸光度的下降幅度，可直接反映NADPH的消耗速率，进而定量表征NADP-ME的催化活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 6mL×1 瓶	液体 12mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 6mL×1 瓶	液体 12mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	-20℃保存
试剂三配制： 用时每瓶粉剂加入蒸馏水6mL，混匀充分溶解，-20℃保存1周，避免反复冻融。			
试剂四	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	-20℃保存
试剂四配制： 用时每瓶粉剂加入蒸馏水6mL，混匀充分溶解，-20℃保存1周，避免反复冻融。			

四、操作步骤：

样本前处理

1、组织：按照组织质量（g）:提取液(mL)为1:10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心10 min，取上清置冰上待测。

2、细菌、细胞：按照细胞数量 10⁴ 个：提取液体积（mL）500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），5000 rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

测定步骤

1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至340nm，蒸馏水调零。

2、测定前将试剂恢复至常温；

3、操作表（在离心管中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	空管
样品（μL）	200	-
双蒸水（μL）	-	200
试剂一（μL）	200	200
试剂二（μL）	200	200
试剂三（μL）	200	200
试剂四（μL）	200	200
混合均匀，记录 340nm 处 20s 时吸光值 A1 和 5min20s 时的吸光值 A2，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ 。 $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$ ； $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} / \Delta A_{\text{空白}}$ 。（空白管只做 1-2 管）		

五、NADP-苹果酸酶（NADP-ME）活性计算：

1、按样本鲜重计算：

单位定义：每克组织每分钟消耗 1nmol NADPH 为一个酶活力单位。

计算公式： $\text{NADP-ME (nmol/min/g)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 160 \times \Delta A \div W$

2、按样本蛋白浓度计算：

单位定义： 每毫克蛋白每分钟消耗 1nmol NADPH 为一个酶活力单位。

计算公式： $\text{NADP-ME (nmol/min/mg)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 160 \times \Delta A \div \text{Cpr}$

3、按细菌或细胞数量计算：

单位定义： 每 1 万个细菌或细胞每分钟消耗 1nmol NADPH 为一个酶活力单位。

计算公式： $\text{NADP-ME (nmol/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 0.322 \times \Delta A$

$V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积， 1×10^{-3} L； ϵ ：NADPH， 6.22×10^3 L/mol/cm；

d ：比色皿光径，1cm； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.2mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； T ：反应时间，5min； Cpr ：样本蛋白质浓度，mg/mL； 10^9 ：单位换算系数， $1\text{mol}=10^9\text{nmol}$ ； W ：样本质量，g；

500：细菌或细胞总数，500 万。

六、 注意事项：

1、实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

2、试剂三对光和热敏感，需分装后-20℃避光冻存，使用前快速解冻并现配现用。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日

