

NADPH 氧化酶(NAO)活性检测试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	包装规格
NBS8103-48T	NADPH 氧化酶(NAO)活性检测试剂盒 微板法	48T

产品简介:

NADPH 氧化酶 (NAO) 是一个典型的膜蛋白, 催化 NADPH 氧化生成 NADP⁺, 并将电子传递给氧原子从而产生超氧阴离子。广泛存在于动物、植物和真菌中。该酶异常可导致人慢性肉芽肿病 (GCD), 在植物中, 该酶与其抗病性和各种胁迫有密切关系。

NADPH 氧化酶 (NAO) 将 NADPH 氧化为 NADP⁺的同时生成超氧阴离子(O₂⁻), 接着与显色剂反应 生成水溶性的黄色物质。对照通过添加该酶的特异性抑制剂 DPI 排除背景值。最终检测生成的有色物质在 450nm 处的吸光值, 即可计算得出 NAO 酶活性大小。

保存条件:

-20°C保存, 六个月有效。

产品组成:

组分	规格	保存	备注
提取液	60mL×1 瓶	2-8°C保存	
试剂一	0.25mL×1 瓶	-20°C保存	若凝固可放置室温或 25°C水浴溶解。
试剂二	1mL×1 瓶	-20°C保存	
试剂三	粉末 mg×2 支	-20°C保存	用前甩几下或离心使粉剂落入底部, 分别加 0.55mL 蒸馏水溶解备用。用不完的试剂分装后 -20°C保存, 禁止反复冻融, 三天内用完。
试剂四	1mL×1 支	-20°C保存	

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：

(a) 组织样本：取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，在 4°C 或冰浴进行匀浆(或使用各类常见匀浆器)。 4°C×12000rpm 离心 10min，取上清作为待测液；

【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 的比例进行提取。

(b) 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 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，可按照细菌/细胞数量 (10^4)：提取液 (mL) 为 500~1000：1 的比例进行提取。

(c) 液体样品：直接检测；若浑浊，离心后取上清检测。

二、上机检测：

(a) 酶标仪预热 30min 以上，设定温度 37°C，调节波长至 450nm。

(b) 所有试剂解冻至室温 (25°C)。

(c) 在 96 孔板中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	20	20
提取液	150	145
试剂一		5
37°C 孵育 5min (可能会产生沉淀，但不影响后续测定)		
试剂二	10	10
试剂三	10	10
试剂四	10	10
37°C 避光孵育 20min，于 450nm 读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。		

【注】若 ΔA 的值在零附近，可以延长反应时间 T (如至 40min 或更长)，则改变后的反应时间 T 需代入公式重新计算。

三、含量计算:

1、按样本蛋白浓度计算:

酶活定义:每毫克组织蛋白每分钟在反应体系中使 450nm 处吸光值变化 0.01 为一酶活单位。

$$\text{NAO}(\Delta\text{OD}_{450}/\text{min}/\text{mg prot})=\Delta A\div(V1\times\text{Cpr})\div 0.01\div T=250\times\Delta A\div\text{Cpr}$$

2、按样本鲜重计算:

酶活定义:每克组织每分钟在反应体系中使 450nm 处吸光值变化 0.01 为一酶活单位。

$$\text{NAO}(\Delta\text{OD}_{450}/\text{min}/\text{g 鲜重})=\Delta A\div(W\times V1\div V)\div 0.01\div T=250\times\Delta A\div W$$

3、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在反应体系中使 450nm 处吸光值变化 0.01 为一酶活单位。

$$\text{NAO}(\Delta\text{OD}_{450}/\text{min}/10^4 \text{ cell})=\Delta A\div(500\times V1\div V)\div 0.01\div T=0.5\times\Delta A$$

V---加入提取液体积, 1mL

V1---加入样本体积, 0.02mL

T---反应时间, 20min

W---样本质量, g

500---细胞或细菌, 万

D---稀释倍数, 未稀释即为 1

Cpr---样本蛋白质浓度, 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