

## NADPH 氧化酶(NAO)活性检测试剂盒 分光法

产品编号	产品名称	包装规格
NBS8102-24T	NADPH 氧化酶(NAO)活性检测试剂盒 分光法	24T

### 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(O<sub>2</sub>.-)，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	1.5mL×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 0.8mL 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	1.5mL×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）；12000rpm4°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) 可见分光光度计预热 30min 以上，设定温度 37°C，调节波长至 450nm，蒸馏水调零。

(b) 所有试剂解冻至室温 (25°C)。

(c) 在 1mL 玻璃比色皿中依次加入：

试剂名称 ( $\mu\text{L}$ )	测定管	对照管
样本	40	40
提取液	580	570
试剂一		10
37°C 孵育 5min (可能会产生沉淀，但不影响后续测定)		
试剂二	30	30
试剂三	30	30
试剂四	30	30
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  $\Delta A$  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 0.005 为一酶活单位。

$$\text{NAO}(\Delta\text{OD}_{450}/\text{min/mg prot}) = \Delta\text{A} \div (\text{V1} \times \text{Cpr}) \div 0.005 \div \text{T} = 250 \times \Delta\text{A} \div \text{Cpr}$$

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 0.005 为一酶活单位。

$$\text{NAO}(\Delta\text{OD}_{450}/\text{min/g 鲜重}) = \Delta\text{A} \div (\text{W} \times \text{V1} \div \text{V}) \div 0.005 \div \text{T} = 250 \times \Delta\text{A} \div \text{W}$$

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 0.005 为一酶活单位。

$$\text{NAO}(\Delta\text{OD}_{450}/\text{min /10}^4 \text{ cell}) = \Delta\text{A} \div (500 \times \text{V1} \div \text{V}) \div 0.005 \div \text{T} = 5 \times \Delta\text{A}$$

V---加入提取液体积，1mL

V1---加入样本体积，0.04mL

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
NBS8089-48T	辅酶 I NAD+/NADH 含量测定试剂盒 分光法	48T
NBS8091-96T	辅酶 I NAD+/NADH 含量测定试剂盒 微板法	96T
NBS8092-48T	辅酶 II NADP+/NADPH 含量测定试剂盒 分光法	48T
NBS8093-96T	辅酶 II NADP+/NADPH 含量测定试剂盒 微板法	96T
NBS8094-100T	NAD+/NADH 检测试剂盒(WST-8 法)	100T
NBS8095-100T	NADP+/NADPH 检测试剂盒 (WST-8 法)	100T
NBS8096-48T	NADH 氧化酶(NOX)活性检测试剂盒 分光法	48T
NBS8097-96T	NADH 氧化酶(NOX)活性检测试剂盒 微板法	96T
NBS8098-48T	NADH-谷氨酸脱氢酶(NADH-GDH)活性检测试剂盒分光法	48T
NBS8099-96T	NADH-谷氨酸脱氢酶(NADH-GDH)活性检测试剂盒 微板法	96T
NBS8100-48T	NADH-谷氨酸合成酶(NADH-GOGAT)活性检测试剂盒 非绿色组织 分光法	48T
NBS8101-96T	NADH-谷氨酸合成酶(NADH-GOGAT)活性检测试剂盒 非绿色组织 微板法	96T
NBS8102-24T	NADPH 氧化酶(NAO)活性检测试剂盒 分光法	24T
NBS8103-48T	NADPH 氧化酶(NAO)活性检测试剂盒 微板法	48T
NBS8104-48T	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	48T
NBS8105-96T	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	96T
NBS8106-96T	NADP 苹果酸酶(NADP-ME)活性检测试剂盒 微板法	96T