

NADPH氧化酶（NAO）试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA2576

产品规格：24样

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。

产品内容：

产品名称	规格	保存条件	备注
提取液	液体60mL×1瓶	2-8°C	
试剂一	液体0.25mL×1支	-20°C	若凝固可放置室温或25°C水浴溶解。
试剂二	液体1.5mL×1支	-20°C	
试剂三	粉剂mg×2支	-20°C	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	液体1.5mL×1支	-20°C	

所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL玻璃比色皿（光径1cm）、水浴锅、可调式移液器、低温台式离心机、研钵、冰、蒸馏水。

NADPH氧化酶（NAO）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：

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。

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(10⁴):提取液(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

③ 液体样本：澄清的液体可直接检测；若浑浊则离心后取上清液检测。

2. 上机检测：

① 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。

② 所有试剂解冻至室温(25°C)。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物技术有限公司

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

③ 在 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂名称 (μL)	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，ΔA=A 测定-A 对照。		

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

结果计算：

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。

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

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。

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

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0.005为一酶活单位。

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

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---细胞或细菌总数，万；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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物技术有限公司

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>