

NADPH氧化酶 (NAO) 试剂盒 (微板法)

产品货号: BA2577

产品规格: 48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℃	
试剂一	液体0.25mL×1支	-20℃	若凝固可放置室温或25℃水浴溶解。
试剂二	液体1mL×1支	-20℃	
试剂三	粉剂mg×2支	-20℃	使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℃保存,禁止反复冻融,三天内用完。
试剂四	液体1mL×1支	-20℃	

所需的仪器和用品:

酶标仪、96孔板、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℃或冰浴进行匀浆(或使用各类常见匀浆器)。4℃×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);12000rpm 4℃ 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 酶标仪预热 30min 以上,设定温度 37℃,调节波长至 450nm。

② 所有试剂解冻至室温(25℃)。

③ 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	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 0.01 为一酶活单位。

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

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 0.01 为一酶活单位。

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

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。

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

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