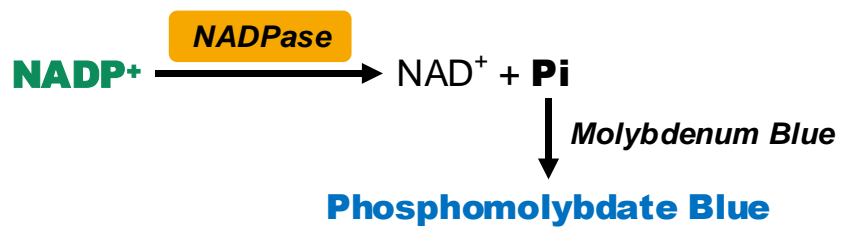




## NADP 磷酸酶 (NADPase) 活性检测试剂盒

### NADPase Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司  
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



## NADP 磷酸酶 (NADPase) 活性检测试剂盒

### NADPase Activity Assay Kit

#### 一、产品描述

NADP 磷酸酶 (NADPase) 主要存在于植物组织中，是生物体内唯一催化 NADP<sup>+</sup> 降解为 NAD<sup>+</sup> 的酶，与 NADK 共同调控 NAD 和 NADP 之间的平衡。

NADP 磷酸酶能够催化 NADP<sup>+</sup> 生成 NAD<sup>+</sup> 和无机磷，无机磷在酸性条件下能够与钼酸铵反应生成磷钼酸铵，经还原后生成蓝色磷钼蓝，产物在 660 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征 NADP 磷酸酶的活性。

#### 二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 30 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 20 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×2 支	4°C 保存	使用前每支加入 1.5 mL 试剂一充分溶解 (现用现配)
试剂三	粉剂×1 瓶	4°C 保存	使用前加入 20 mL 蒸馏水充分溶解 (现用现配，配制后 4°C 可保存 1 周)
试剂四	粉剂×1 瓶	4°C 保存	使用前加入 20 mL 蒸馏水充分溶解 (现用现配，配制后 4°C 可保存 1 周)
试剂五	液体 20 mL×1 瓶	RT 保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C 保存	<b>10 mmol/L 磷标准液</b>
标准应用液的制备：使用前将 10 mmol/L 磷标准液使用蒸馏水稀释 20 倍至 0.5 mmol/L 即为标准应用液。			

定磷剂的配制 (根据使用量现用现配)：按试剂三：试剂四：试剂五：H<sub>2</sub>O=1:1:1:2 的体积比配制。

定磷剂正常应为浅黄色，若无色则试剂失效，若蓝色则为磷污染。

#### 三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿 (光径 10 mm)、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

### 1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

### 2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 660 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 ( $\mu\text{L}$ )	对照管 ( $\mu\text{L}$ )	标准管 ( $\mu\text{L}$ )	空白管 ( $\mu\text{L}$ )
试剂一	300	300	-	-
试剂二	100	-	-	-
蒸馏水	-	100	-	-
37℃（哺乳动物）或 25℃（其他物种）预热 5 min				
粗酶液	100	100	-	-
①37℃（哺乳动物）或 25℃（其他物种）准确反应 20 min				
②立即沸水浴处理 5 min，冷却至室温				
③10000 g 常温离心 10 min，取上清液				
上清液	100	100	-	-
标准应用液	-	-	100	-
蒸馏水	-	-	-	100
定磷剂	1000	1000	1000	1000
充分混匀，37℃显色 30 min				

**吸光值测定：**吸取 1 mL 反应液至 1 mL 玻璃比色皿中，测定 660 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算  $\Delta A$  测定=A 测定-A 对照， $\Delta A$  标准=A 标准-A 空白。注：空白管只需测定 1-2 次，每个样品均需设一个对照管。

### 3. NADP 磷酸酶（NADPase）活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1  $\mu\text{mol}$  无机磷所需酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{NADPase (U/mg prot)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{酶促}}}{\Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{0.125 \times \Delta A_{\text{测定}}}{C_{\text{pr}} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

## ②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织样本每分钟生成 1  $\mu\text{mol}$  无机磷所需酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{NADPase (U/g)} = \frac{C \text{ 标} \times \Delta A \text{ 测定} \times V \text{ 酶促} \times V \text{ 提}}{\Delta A \text{ 标准} \times W \times V \text{ 样} \times T} = \frac{0.125 \times \Delta A \text{ 测定}}{W \times \Delta A \text{ 标准}}$$

**注释：**C 标：磷标准应用液浓度，0.5  $\mu\text{mol/mL}$ ；V 上清：反应体系中加入上清液的体积，0.1 mL；

V 提：粗酶液总体积，1 mL；V 样：酶促反应体系中加入粗酶液的体积，0.1 mL；V 酶促：酶促反应总体积，0.5 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：酶促反应时间，20 min。

## 四、注意事项

①提取液中含有约 1 mg/mL 的蛋白，测定样本蛋白浓度时需要减去提取液本身的蛋白含量；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

**For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.**

**boxbio**

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

