

NAD 激酶 (NADK) 测试盒

比色法: 50T/24 样

一、测定原理:

NADK 催化 NAD⁺磷酸化,生成 NADP⁺,NADP⁺可被 6-磷酸葡萄糖脱氢酶还原为 NADPH;通过在 340nm 下测定 NADPH 的增加速率可反映出 NADK 活性的大小。

二、自备实验用品及仪器:

水浴锅、离心机、可见分光光度计、1 ml 石英比色皿、可调式移液枪和蒸馏水。

三、试剂组成和配制:

提取液: 液体 50ml×1 瓶, 4° C 保存;

试剂一: 溶剂 25ml×1 瓶, 4° C 保存;

试剂二: 溶剂 50ml×1 支, 4° C 保存;

试剂三: 粉剂×1 瓶, -20° C 保存;

试剂四: 粉剂×1 瓶, -20° C 保存。

四、样品前处理:

详见试剂盒内说明书关于样本处理的说明。测定组织、细菌和细胞时需要测定蛋白浓度。

可用总蛋白定量测试盒(考马斯亮蓝法)或者总蛋白定量测试盒(BCA 法)进行蛋白浓度的测定。

五、测定步骤:

- 1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 340nm, 蒸馏水调零;
- 2、将溶剂一与溶剂二在 37° C (哺乳动物) 或 25° C (其他物种) 水浴 15min 以上;
- 3、工作液 I 的配制: 在试剂三中加入 12ml 溶剂一, 充分混匀待用; 现配现用; 工作液 II 的配制: 在试剂四中加入 45ml 溶剂二, 充分混匀待用, 现配现用。
- 4、操作表:

试剂 (μl)	空白管	标准管
样本 (μl)	100	100
工作液 ()		0
试剂一 (μl)		400
充分混匀, 在 37° C (哺乳动物) 或 25° C (其他物种) 水浴 15min, 立即煮沸 2min (盖紧以防水分流失), 并与冷却, 1000g, 室温离心 10min, 取上清		
上清液 (μl)	200	200
工作液 II (μl)	800	800

加完试剂混匀后, 室温静置 15 分钟在 340nm 下测定 30 秒的吸光值, 计算 A=A 测定-A 对照。