

NADPH-细胞色素 c 还原酶(NCR)测试盒

比色法：50T/48 样

一、测定原理：

NCR 催化 NADPH 还原氧化型细胞色素 c，还原型细胞色素 c 在 550nm 处有独特吸收峰；通过测定 550nm 吸光度的增加速率，来计算 NCR 活性。

二、需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、普通离心机、超速离心机、可调式移液器、1ml 玻璃比色皿和蒸馏水

三、试剂的组成和配制：

试剂一：粉剂×1 瓶，4℃保存；临用前加入 100ml 蒸馏水充分溶解。

试剂二：液体×1 瓶，4℃保存。

试剂三：粉剂×1 瓶，-20℃保存；临用前加入 2.60ml 蒸馏水充分溶解，4℃保存。

试剂四：粉剂×1 瓶，4℃保存；临用前加入 550 μl 蒸馏水充分溶解，4℃保存。

四、粗酶液提取：

样本提取详见试剂盒内说明书。测定细菌、组织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 550nm，蒸馏水调零；
- 2、 试剂二在 37℃水浴预热 30min 以上；
- 3、 样本测定

(1) 空白管：取 1ml 玻璃比色皿，一次加入 50 μ l 蒸馏水、900 μ l 试剂二、50 μ l 试剂三和 10 μ l 试剂四，迅速混匀后于 550nm 处分别测定第 10s 吸光值 A1 和第 130s 吸光值 A2，计算 ΔA 空白=A2-A1。

(2) 测定管：取 1ml 玻璃比色皿，一次加入 50 μ l 粗酶液、900 μ l 试剂二、50 μ l 试剂三和 10 μ l 试剂四，迅速混匀后于 550nm 处分别测定第 10s 吸光值 A3 和第 130s 吸光值 A4；计算 ΔA 测定=A4-A3。