

辅酶ⅡNADP（H）含量检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1097

产品规格：50管/24样

产品简介：

辅酶ⅡNADP(H)广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，NADP⁺和NADPH含量测定可以计算NADP（NADPH + NADP⁺）含量和NADPH/NADP⁺比值，其变化与磷酸戊糖途径和生物合成以及抗氧化反应密切相关。NADPH/NADP⁺比值不仅是细胞氧化还原态的主要标志之一，而且在PPP途径、生物合成和抗氧化代谢中具有重要调控作用。

分别用酸性和碱性提取液提取样品中NADP⁺和NADPH。NADPH通过PMS的递氢作用，使氧化型噻唑蓝（MTT）还原为甲瓚，570nm下检测吸光值，从而测定NADPH含量。利用6-磷酸葡萄糖脱氢酶还原NADP⁺为NADPH，从而检测NADP⁺含量。

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品内容：

- 酸性提取液：50mL×1瓶，4℃保存；
- 碱性提取液：50mL×1瓶，4℃保存；
- 试剂一：基质缓冲液15mL×1瓶，4℃保存；
- 试剂二：粉剂×1支，-20℃保存，用时加入4mL双蒸水，混匀；
- 试剂三：粉剂×1支，-20℃保存，用时加入4mL双蒸水，混匀；
- 试剂四：粉剂×1支，4℃保存，用时加入4mL双蒸水，混匀；
- 试剂五：液体1.8mL×1支，4℃保存；
- 试剂六：液体30mL×1瓶，4℃保存；
- 试剂七：液体50mL×1瓶，4℃保存。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、1mL玻璃比色皿或酶标仪、研钵、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、NADP和NADPH的提取：

1. 血清（浆）中NADP和NADPH的提取：

NADP的提取：取0.1mL血清（浆），加入0.9mL酸性提取液，煮沸5min（盖紧）；冰浴冷却后，10000g，4℃离心10min；取上清液，加入等体积碱性提取液使之中和；混匀，10000g，4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

NADPH的提取：取0.1mL血清（浆），加入0.9mL碱性提取液，煮沸5min（盖紧）；冰浴冷却后，10000g，4℃离心10min；取上清液，加入等体积酸性提取液使之中和；混匀，10000g，4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

2. 组织中NADP和NADPH的提取：

NADP的提取：称取约0.1g组织，加入0.9mL酸性提取液，冰浴研磨，煮沸5min（盖紧）；冰浴冷却后，10000g，4℃离心10min；取上清液加入等体积碱性提取液混匀，10000g，4℃离心10min，取上清，冰上保存待测。



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

NADPH的提取：称取约0.1g组织，加入0.9mL碱性提取液，冰浴研磨，煮沸5min（盖紧）；冰浴冷却后，10000g 4℃离心10min；取上清液加入等体积酸性提取液混匀，10000g 4℃离心10min，取上清，冰上保存待测。

3. 细胞或细菌中NADP⁺和NADPH的提取：

NADP的提取：收集400-500万细胞或细菌，加入0.9mL酸性提取液，超声波破碎1min（强度20%或200W，超声2s，停1s），煮沸5min（盖紧，以防止水分散失），冰浴中冷却后，10000g 4℃离心10min，取上清液至另一新的离心管中，加入等体积的碱性提取液使之中和，混匀，冰上保存待测。

NADH的提取：收集400-500万细胞或细菌，加入0.9mL碱性提取液，超声波破碎1min（强度20%或200W，超声2s，停1s），煮沸5min（盖紧，以防止水分散失），冰浴中冷却后，10000g 4℃离心10min，取上清液至另一新的离心管中，加入等体积的酸性提取液使之中和，混匀，冰上保存待测。

二、测定步骤(在1.5mL EP管中按下表依次加样)：

试剂名称	测定孔 (μL)
样本	50
双蒸水	
试剂一	250
试剂二	75
试剂三	75
试剂四	75
试剂五	35
对照管可以只做一个，不需每一个样品都做对照。充分混匀后，室温避光静置40min。	
试剂六	500
充分混匀，静置5min后，20000g，4℃离心5min，弃上清，沉淀中加入：	
试剂七	1000

混匀，570nm下比色。

（一）NADP⁺含量的计算

1. 血清（浆）中NADP⁺含量计算

$$\text{NADP}^+ \text{含量} (\mu\text{mol/mL}) = (\text{测定管OD值} - 0.047) \times 376$$

2. 组织中NADP⁺含量计算

(1) 按样本蛋白浓度计算

$$\text{NADP}^+ (\mu\text{mol/g prot}) = (\text{测定管OD值} - 0.047) \times 37.6 \div \text{样本蛋白浓度 (g/L)}$$

(2) 按样本鲜重计算

$$\text{NADP}^+ (\mu\text{mol/g mass}) = (\text{测定管OD值} - 0.047) \times 37.6 \div \text{样本鲜重 (g/L)}$$

3. 细菌或细胞中NADP⁺含量计算

(1) 按样本蛋白浓度计算

$$\text{NADP}^+ (\mu\text{mol/g prot}) = (\text{测定管OD值} - 0.047) \times 37.6 \div \text{样本蛋白浓度 (g/L)}$$

(2) 按细菌或细胞密度计算

$$\text{NADP}^+ (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = (\text{测定管OD值} - 0.047) \times 37.6 \div \text{细菌或细胞} (10^4 \text{ cell/L})$$

（二）NADPH含量的计算

1. 血清（浆）中NADPH含量计算

$$\text{NADPH含量} (\mu\text{mol/L}) = (\text{测定管OD值} - 0.047) \times 855$$

2. 组织中NADPH含量计算

(1) 按样本蛋白浓度计算



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

$\text{NADPH } (\mu\text{mol/g prot}) = (\text{测定管OD值} - 0.047) \times 85.5 \div \text{样本蛋白浓度 (g/L)}$

(2) 按样本鲜重计算

$\text{NADPH } (\mu\text{mol/g mass}) = (\text{测定管OD值} - 0.047) \times 85.5 \div \text{样本鲜重 (g/L)}$

3. 细胞或细菌中NADPH含量计算

(1) 按样本蛋白浓度计算

$\text{NADPH } (\mu\text{mol/g prot}) = (\text{测定管OD值} - 0.047) \times 85.5 \div \text{样本蛋白浓度 (g/L)}$

(2) 按细菌或细胞密度计算

$\text{NADPH } (\mu\text{mol}/10^4\text{cell}) = (\text{测定管OD值} - 0.047) \times 85.5 \div \text{细菌或细胞密度 } (10^4\text{cell/L})$

注意事项:

1. 若用比色皿测，沉淀用试剂七溶解后必须立即测。最好加一个测一个。
2. 若用酶标板测，也必须在测定时再加试剂七，加入1000 μL 试剂七溶解沉淀，混匀后，取300 μL 至酶标板中，立即测定。
3. 不可将试剂一、二、三和四混合后再加，必须分开加。



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>