

组织细胞辅酶I (NAD⁺/NADH) 含量检测试剂盒(WST-8法)

产品货号: BA2521

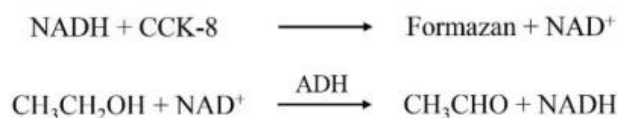
产品规格: 96次

产品简介:

NAD/NADH检测试剂盒(NAD/NADH Assay Kit)是一种特异灵敏的检测总烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)或还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)的试剂盒。NAD在细胞内以两种化学型存在, NAD⁺是氧化型, NADH是还原型。在氧化还原反应中, NAD⁺作为氢和电子的受体, NADH作为氢和电子的供体, 在呼吸作用、光合作用、酒精代谢等生理过程中发挥重要作用。

本试剂盒利用NADH与CCK-8试剂反应生成NAD⁺和甲赞(Formazan), 通过测定甲赞450nm吸光度定量测定NADH浓度。在该检测反应中, 同时加入乙醇和乙醇脱氢酶(ADH), 可以将生成的NAD⁺还原为NADH, 使检测反应成为循环反应, 在乙醇、CCK-8和ADH过量的条件下, 生成的甲赞与NAD⁺和NADH总量(NAD)成正相关, 从而定量检测NAD浓度。在样本经过加热分解NAD⁺后, 可以定量检测NADH浓度。

检测反应示意图如下:



本试剂盒具有良好的检测线性, 检测NAD/NADH的线性范围为0.156-10μM, 灵敏度≤0.156μM。

本试剂盒能够检测细胞培养上清、细胞裂解上清、组织裂解上清、血浆和血清中的NAD/NADH。

产品组成:

组份名称	规格	保存条件
Lysis Buffer	50ml	-20℃
NAD/NADH Assay Buffer	5ml	-20℃
Ethanol Solution	250μl	-20℃
ADH Solution	250μl	-20℃
CCK-8 Solution	1ml	-20℃
NADH Standard (1mM)	250μl	-80℃

测定前准备:

1. 样品的准备

- (1) 细胞裂解上清的准备: 将需要测定的细胞(1×10^6 - 1×10^7)收集到2ml的离心管中, 4℃、300g离心5分钟, 弃去上清, 然后加入200μl的Lysis Buffer, 冰浴裂解30min, 4℃、10000g离心10分钟, 收集上清。
- (2) 组织裂解上清的准备: 将需要测定的组织(20-50mg)收集到玻璃匀浆器或自动匀浆管中, 然后加入0.5ml的Lysis Buffer, 匀浆1min, 4℃、10000g离心10分钟, 收集上清。
- (3) NADH测定样品的准备: 将上述样本, 60℃孵育30min, 使NAD⁺分解后, 用于NADH测定。

2. 试剂盒的准备

NAD/NADH检测工作液的配制: 根据待测样品数参考下表配制适当量的NAD/NADH检测工作液, 表中试剂按比例混合后即成为NAD/NADH检测工作液。



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

	1个样品	10个样品	50个样品
NAD/NADH Assay Buffer	36μl	0.36ml	1.8ml
Ethanol Solution	2μl	20μl	100μl
ADH Solution	2μl	20μl	100μl
CCK-8 Solution	10μl	100μl	500μl

3. 标准品的准备

在1.5ml离心管中，加入990μl纯水或Lysis Buffer，再取10μl的1mM浓度NADH标准品加入离心管中配制10μM浓度NADH标准品；然后取另外6根1.5ml离心管，分别加入500μl纯水或Lysis Buffer，再吸取500μl的10μM浓度ATP标准品依次倍倍稀释为5、2.5、1.25、0.625、0.312、0.156μM浓度。

测定方法：

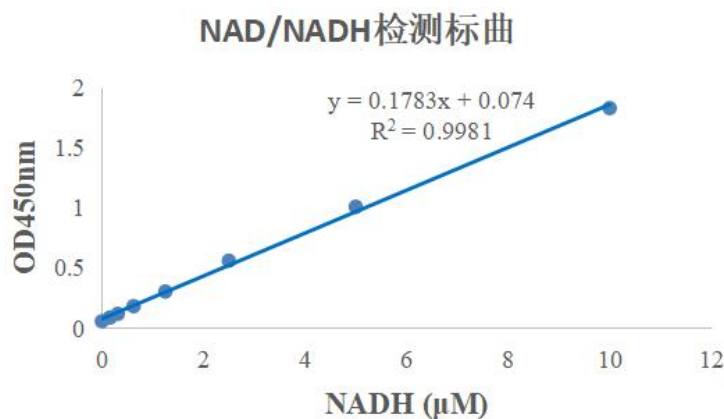
- 参考下表，使用透明96孔板，依次加入标准品或样品、NAD/NADH检测工作液，混匀，室温孵育10-30分钟。

	空白对照孔	标准曲线孔	样品孔
纯水或Lysis Buffer	50μl	-	-
NADH标准品	-	50μl	-
样品	-	-	50μl
NAD/NADH检测工作液	50μl	50μl	50μl

- 待反应完成后，利用酶标仪测定相对发光强度450nm波长的吸光度，如果样本中NAD/NADH浓度偏低，可以适当延长反应时间。

数据处理：

利用标准品浓度为横坐标，450nm波长的吸光度值为纵坐标制作标准曲线，并获得横纵坐标之间的函数关系式，然后利用标准曲线和各样品的吸光度值计算样品中NAD/NADH浓度。NAD/NADH标曲测定如下图所示：



注意事项：

- 每次测定时利用标准品制作标准曲线。
- 实验过程中，除裂解液和检测缓冲液外，其它试剂请置于冰上。
- 本产品仅限专业人员用于科学研究，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。

有效期：

12个月有效。



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