

组织细胞辅酶II（NADP⁺/NADPH）检测试剂盒(WST-8法)

产品货号：BA2522

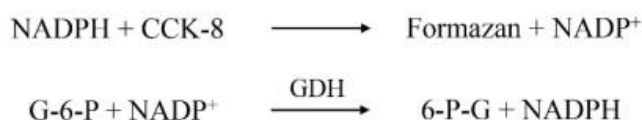
产品规格：96次

产品简介：

NADP/NADPH检测试剂盒(NADP/NADPH Assay Kit)是一种特异灵敏的检测总烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADP)或还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)的试剂盒。NADP在细胞内以两种化学型存在，NADP⁺是氧化型，NADPH是还原型。在氧化还原反应中，NADP⁺作为氢和电子的受体，NADPH作为氢和电子的供体，在糖酵解等生理过程中发挥重要作用。

本试剂盒利用NADPH与CCK-8试剂反应生成NADP⁺和甲赞(Formazan)，通过测定甲赞450nm吸光度定量测定NADPH浓度。在该检测反应中，同时加入葡萄糖-6-磷酸(Glucose-6-phosphate, G-6-P)和葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(Glucose-6-phosphate dehydrogenase, GDH)，可以将生成的NADP⁺还原为NADPH，使检测反应成为循环反应，在G-6-P、CCK-8和GDH过量的条件下，生成的甲赞与NADP⁺和NADPH总量(NADP)成正相关，从而定量检测NADP浓度。在样本经过加热分解NADP⁺后，可以定量检测NADPH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 NADP/NADPH 的线性范围为 0.078-5μM，灵敏度≤0.078μM。

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NADP/NADPH。

产品组成：

组份名称	规格	保存条件
Lysis Buffer	50ml	-20℃
NADP/NADPH Assay Buffer	5ml	-20℃
G-6-P Solution	0.6ml	-20℃
GDH Solution	60μl	-20℃
CCK-8 Solution	1ml	-20℃
NADPH 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) NADPH测定样品的准备：将上述样本，60℃孵育30min，使NADP⁺分解后，用于NADPH测定。

2. 试剂盒的准备

NADP/NADPH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NADP/NADPH检测工作液，表中试剂按



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

比例混合后即为NADP/NADPH检测工作液。

	1个样品	10个样品	50个样品
NADP/NADPH Assay Buffer	34.5μl	0.345ml	1.725ml
G-6-P Solution	5μl	50μl	250μl
GDH Solution	0.5μl	5μl	25μl
CCK-8 Solution	10μl	100μl	500μl

3. 标准品的准备

在1.5ml离心管中，加入995μl纯水或Lysis Buffer，再取5μl的1mM浓度NADPH标准品加入离心管中配制5μM浓度NADPH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5μM浓度NADPH标准品依次倍倍稀释为2.5、1.25、0.625、0.312、0.156、0.078μM浓度。

测定方法：

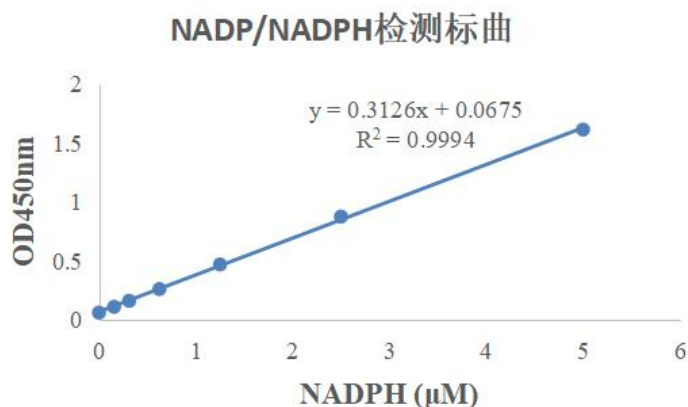
- 参考下表，使用透明96孔板，依次加入标准品或样品、NADP/NADPH检测工作液，混匀，室温孵育10-20分钟。

	空白对照孔	标准曲线孔	样品孔
纯水或Lysis Buffer	50μl	-	-
NADPH标准品	-	50μl	-
样品	-	-	50μl
NADP/NADPH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NADP/NADPH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NADP/NADPH浓度。NADP/NADPH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>