

液体样本辅酶I (NAD⁺/NADH) 含量检测试剂盒(WST-8法)

产品货号: BA2490

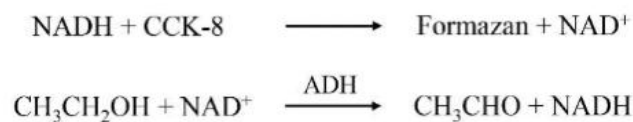
产品规格: 96次

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)成正比,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0.156-10 μ M,灵敏度 \leq 0.156 μ M。

本试剂盒能够检测细胞培养上清、血浆和血清中的NAD/NADH。

试剂盒组成:

试剂名称	规格	保存要求
NAD/NADH Assay Buffer	5ml	-20 $^{\circ}$ C
Ethanol Solution	250 μ l	-20 $^{\circ}$ C
ADH Solution	250 μ l	-20 $^{\circ}$ C
CCK-8 Solution	1ml	-20 $^{\circ}$ C
NADH Standard (1mM)	250 μ l	-20 $^{\circ}$ C

测定前准备:

1. 样品的准备

1.1 细胞培养上清的准备:将需要测定的细胞接种到培养板中,经过干预因素处理后,直接吸取细胞上清,如果是悬浮细胞,4 $^{\circ}$ C,300g离心5分钟,收集上清。

1.2 血浆样品的准备:取新鲜抗凝血液,4 $^{\circ}$ C,1000g离心10分钟,上清为血浆。

1.3 血清样品的准备:取新鲜血液,室温凝固30min,4 $^{\circ}$ C,1000g离心10分钟,上清为血清。

1.4 NADH测定样品的准备:将上述样本,60 $^{\circ}$ C孵育30min,4 $^{\circ}$ C,10000g离心10分钟,取上清,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为NAD/NADH检测工作液。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话:400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ:807961520 731791866

邮箱:zzlybio@126.com

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

3. 标准品的准备

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

测定方法:

1. 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30分钟。

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

2. 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。

注意事项:

1. 每次测定时利用标准品制作标准曲线。
2. 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。
3. 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。

效期: 12个月。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com