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：

$$\text{NADPH} + \text{CCK-8} \longrightarrow \text{Formazan} + \text{NADP}^+$$

$$\text{G-6-P} + \text{NADP}^+ \xrightarrow{\text{GDH}} \text{6-P-G} + \text{NADPH}$$

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：

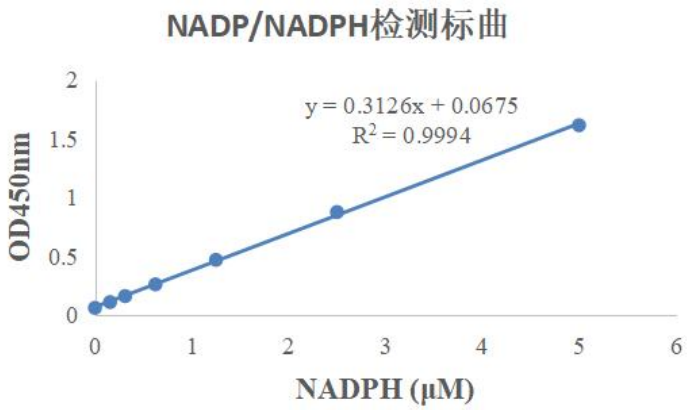
1. 参考下表，使用透明 96 孔板，依次加入标准品或样品、NADP/NADPH 检测工作液，混匀，室温孵育 10-20 分钟。

	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

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 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：

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。

有效期：

12个月有效。

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