

液体样本辅酶II (NADP+/NADPH) 检测试剂盒(WST-8法)

产品货号: BA2491

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、血浆和血清中的NADP/NADPH。

试剂盒组成:

试剂名称	规格	保存要求
NADP/NADPH Assay Buffer	5ml	-20°C
G-6-P Solution	0.6ml	-20°C
GDH Solution	60μl	-20°C
CCK-8 Solution	1ml	-20°C
NADPH Standard (1mM)	250μl	-20°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°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°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°C,1000g离心10分钟,上清为血清。

1.4 NADPH测定样品的准备:将上述样本,60°C孵育30min,使NADP⁺分解后,用于NADPH测定,4°C、10000g离心10分钟,收集上清。

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



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

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	34.5 μ l	0.345ml	1.725ml
G-6-P Solution	5 μ l	50 μ l	250 μ l
GDH Solution	0.5 μ l	5 μ l	25 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995 μ l纯水或Lysis Buffer，再取5 μ l的1mM浓度NADPH标准品加入离心管中配制5 μ M浓度NADPH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5 μ M浓度NADPH标准品依次倍倍稀释为2.5、1.25、0.625、0.312、0.156、0.078 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、NADP/NADPH检测工作液，混匀，室温孵育20分钟。

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

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

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