

辅酶 II (NADP⁺/NADPH)含量测试盒

比色法：50T/24 样

一、测定原理：

分别用酸性和碱性提取液提取样品中 NADP⁺和 NADPH。NADPH 通过 PMS 的递氢作用，使氧化型噻唑蓝（MTT）还原为甲瓚，570nm 下检测吸光值，从而测定 NADPH 含量。利用 6-磷酸葡萄糖脱氢酶还原 NADP⁺为 NADPH，从而检测 NADP⁺含量。

二、仪器设备（自备）：

可见分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1ml 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

三、试剂组成：（50T/24 样）

酸性提取液：50ml×1 瓶，4℃保存；

碱性提取液：50ml×1 瓶，4℃保存；

试剂一：液体 15 ml×1 瓶，4℃保存；

试剂二：粉剂×1 支，-20℃保存，用时加入 4ml 蒸馏水，混匀；用不完的试剂 4℃保存一周；

试剂三：粉剂×1 支，-20℃保存，用时加入 4ml 蒸馏水，混匀；用不完的试剂 4℃保存一周；

试剂四：粉剂×1 支，4℃保存，用时加入 4ml 蒸馏水，混匀；用不完的试剂 4℃保存一周；

试剂五：液体 1.8ml×1 支，4℃保存；

试剂六：液体 30ml×1 瓶，4℃保存；

试剂七：液体 50ml×1 瓶，4℃保存。

四、操作步骤：

(一) NADP+和 NADPH 的提取:

详见试剂盒内说明书关于样本处理的说明。测定组织、细菌和细胞时需要测定蛋白浓度。可用总蛋白定量测试盒（考马斯亮蓝法）或者总蛋白定量测试盒(BCA 法)进行蛋白浓度的测定。

(二) 测定步骤: (在 1.5ml 棕色 EP 管中按下表依次加样, 反应过程需要避光):

试剂名称(μl)	对照管	测定管
样本	50	50
试剂一	250	250
试剂二	75	75
试剂三	75	75
试剂四	75	75
试剂五	35	35
试剂六	500	混匀, 室温避光静置 20min
试剂六		500
试剂七	1000	1000

充分混匀, 静置 5min 后, 20000g, 25℃ 离心 5min, 弃上清, 沉淀中加入:
混匀, 波长 570nm, 光径 1cm, 双蒸水调零测定对照吸光值 A1 和测定管吸光

值 A2, 计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。

注: 对照管试剂五加完后必须马上加入试剂六, 而测定管加完试剂五之后必须反应

20min 后再加试剂六。