

## 辅酶 I NAD(H)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 NAD<sup>+</sup> 和 NADH，NADH 通过 PMS 的递氢作用，还原氧化型噻唑蓝（MTT）为甲臆（Formazan），在 570nm 下检测吸光值；而 NAD<sup>+</sup> 可被乙醇脱氢酶还原为 NADH，进一步采用 MTT 还原法检测。

### 二、需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、台式离心机、移液器、1mL 比色皿、研钵、冰和蒸馏水

### 三、试剂组成与配制：

试剂	规格	储存条件
酸性提取液	50mL×1 瓶	4° C
碱性提取液	50mL×1 瓶	4° C
试剂一	15mL×1 瓶	4° C
试剂二	4mL×1 瓶	4° C
试剂三	粉剂×1 瓶	-20° C
	试剂三溶液配置：用时加入 4mL 蒸馏水，混匀，用不完的试剂在 4° C 保存一周	
试剂四	粉剂×1 瓶	4° C
	试剂四溶液配置：用时加入 4mL 蒸馏水，混匀，用不完的试剂在 4° C 保存一周	
试剂五	1.8mL×1 瓶	4° C
试剂六	30mL×1 瓶	4° C
试剂七	50mL×1 瓶	4° C

### 四、NAD<sup>+</sup>和 NADH 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。

### 四、检测步骤：

试剂	测定管	对照管
样品 (μL)	50	50
试剂一 (μL)	250	250
试剂二 (μL)	75	75
试剂三 (μL)	75	75
试剂四 (μL)	75	75
试剂五 (μL)	35	35
试剂六 (μL)		500
混匀, 室温避光静置 20 min		
试剂六 (μL)	500	
充分混匀, 静置 5 min 后, 20000 g, 常温离心 5 min, 弃上清, 取沉淀;		
试剂七 (μL)	1000	1000
混匀, 波长 570nm 处, 1cm 光径比色皿, 蒸馏水调零, 测定各管吸光值。		

(对照管加完试剂五必须马上加入试剂六)