

## Non-Protein sulfhydryl (NPTs) Kit

### 非蛋白巯基含量测定试剂盒说明书

货号: BN72216 | 方法: 微板法 | 规格: 48 样

#### 一、产品简介:

巯基化合物在生物体内具有重要的解毒功能, 可与烯烃类、氢氢酸、醛类、环氧化物、砷和很多重金属产生反应。因此, 在动植物受到某些化学毒物干扰后, 巯基含量有可能降低, 其中非蛋白巯基成分下降得更快。

本试剂盒采用 Ellman 方法, 由 DTNB 与样品中的巯基进行反应, 在 412nm 处有特征吸收峰, 可通过该吸光值计算出非蛋白巯基的含量。

#### 二、试剂盒组分与配制:

| 试剂名称 | 规格          | 保存要求 | 备注              |
|------|-------------|------|-----------------|
| 提取液  | 液体 30mL×1 瓶 | 4℃保存 |                 |
| 试剂一  | 液体 13mL×1 瓶 | 4℃保存 |                 |
| 试剂二  | 液体 1mL×1 支  | 4℃保存 |                 |
| 标准品  | 粉剂 mg×1 支   | 4℃保存 | 若重新做标曲, 则用到该试剂。 |

#### 三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、低温离心机、可调式移液器、**甲醇**。

#### 四、非蛋白巯基 (NPT) 的测定:

##### 1、样本制备

###### ① 组织样本

称取约 0.1g 组织, 加入 0.4mL 提取液, 进行冰浴匀浆。然后加入 0.8mL 甲醇, 室温震荡 10min (防止液体蒸发丢失, 可加甲醇补齐), 12000rpm, 4℃离心 10min, 取上清置冰上待测。

【注】: ①根据实验室条件, 可先液氮研磨, 再加提取液, 进行冰浴匀浆。

②根据研究需求, 可按组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1:10 的比例进行提取。

###### ② 液体样本

取 0.1ml 液体, 加入 0.4mL 提取液, 进行冰浴匀浆。然后加入 0.8mL 甲醇, 室温震荡 10min (防止液体蒸发丢失, 可加甲醇补齐至 1.3mL), 12000rpm, 4℃离心 10min, 取上清液置冰上待测。

##### 2、上机检测

① 酶标仪预热 30min, 设置温度在 25℃, 设定波长为 412nm。

② 所有试剂在使用前均须在室温或 25℃水浴锅中温育 10min。

③ 在 96 孔酶标板中依次加入:

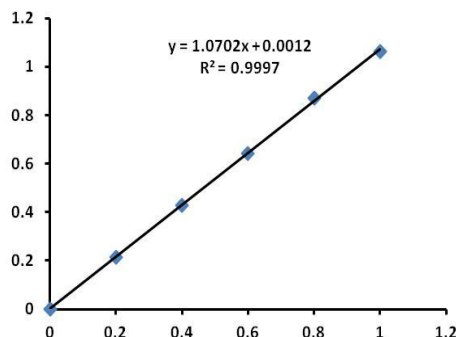
| 试剂名称 (μL)                                                                                        | 测定管 | 对照管 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 样品                                                                                               | 30  | 30  |
| 试剂一                                                                                              | 120 | 140 |
| 试剂二                                                                                              | 20  |     |
| 混匀, 25℃静置 2min, 于 96 孔板, 测定 412nm 吸光值, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (每个样本做一个自身对照)。 |     |     |

注意: 本操作流程适用于绝大多数常规样本检测, 实验条件可根据实际样本

状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

## 五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y=1.0702x+0.0012$ ， $x$  为标准品摩尔浓度( $\mu\text{mol/mL}$ )； $y$  为 $\Delta A$ 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按样本质量计算：

$$\begin{aligned}\text{非蛋白质巯基含量}(\mu\text{mol/g 鲜重}) &= [(\Delta A - 0.0012) \div 1.0702 \times V1] \div (W \times V1 \div V) \\ &= 1.12 \times (\Delta A - 0.0012) \div W\end{aligned}$$

3、按液体体积计算：

$$\begin{aligned}\text{非蛋白质基含量}(\mu\text{mol/mL}) &= [(\Delta A - 0.0012) \div 1.0702 \times V1] \div [(0.1 \times V1 \div (V + 0.1))] \\ &= 12.14 \times (\Delta A - 0.0012)\end{aligned}$$

V---上清液总体积，1.2mL；

V1---加入样本体积，0.03 mL；

W---样本质量，g；

GSH 分子量---307.3。