

Non-Protein sulfhydryl (NPTs) Kit

非蛋白巯基含量测定试剂盒说明书

货号:BN72217 | 方法: 可见分光法 | 规格: 24 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 15mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 30mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体×1 瓶	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:

分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、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 分光光度计预热 30min, 设定波长为 412nm, 蒸馏水调零。

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 EP 管或 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中依次加入:

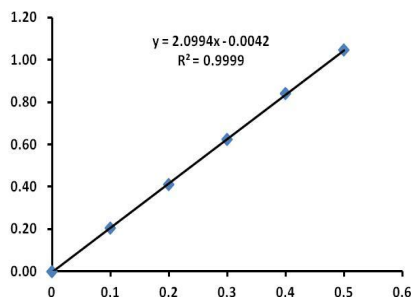
试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样品	120	120
试剂一	480	560
试剂二	80	
混匀, 25℃静置 2min, 测定 412nm 吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (每个样本做一个自身对照)。		

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： $y=2.0994x-0.0042$ ， x 为标准品摩尔浓度($\mu\text{mol/mL}$)； y 为 ΔA 。



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：

$$\begin{aligned}\text{非蛋白质巯基含量}(\mu\text{mol/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0042) \div 2.0994 \times V1] \div (W \times V1 \div V) \\ &= 0.572 \times (\Delta A + 0.0042) \div W\end{aligned}$$

3、按液体体积计算：

$$\begin{aligned}\text{非蛋白质基含量}(\mu\text{mol/mL}) &= [(\Delta A + 0.0042) \div 2.0994 \times V1] \div [(0.1 \times V1 \div (V + 0.1))] \\ &= 6.19 \times (\Delta A + 0.0042)\end{aligned}$$

V---加入提取液体积，1.2mL；

V1---加入样本体积，0.12 mL；

W---样本质量，g；

GSH 分子量---307.3。