



非蛋白质巯基含量检测试剂盒

NPSH Assay Kit

微量法

产品编号：AK364M

产品规格：100T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
ES364	60mL×1瓶	4℃保存
AK364-A	20 mL×1瓶	4℃保存
AK364-B	粉剂×1支	4℃保存；临用前加入 1.5 mL 无水乙醇充分溶解备用，4℃可保存两个月
AK364-标准品	粉剂×1支	4℃保存；临用前加入 1.65 mL 提取液配制成为 50 μmol/mL 的标准溶液备用，4℃可保存 1 个月

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

意义：生物体内巯基主要包括非蛋白质巯基和蛋白质巯基，巯基化合物在体内具有重要的解毒功能，对生物体的自我调节具有非常重要的生理意义。

原理：巯基基团与 5,5'-二硫代-双-硝基苯甲酸（DTNB）反应，生成黄色化合物，在 412nm 处有最大吸收峰。

自备用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、微量玻璃比色皿/96 孔板、天平、研钵、超声破碎仪、无水乙醇、冰和蒸馏水。

样品制备：

- 按照组织质量（g）：ES364 体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL ES364）进行冰浴匀浆，然后 8000g，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。
- 细胞或细菌：按照细胞数量（10⁴个）：ES364 体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL 提取液），超声波破碎细胞（功率 200w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min），然后 8000g，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。
- 血清、培养液：取 0.1mL 样本，加入 1mL ES364，混匀，室温静置 10min，然后 8000g，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

测定步骤：

- 分光光度计/酶标仪预热 30min，调节波长至 412nm，分光光度计用蒸馏水调零。
- 标准溶液的制备：将 50 μmol/mL 标准溶液用提取液稀释至 1、0.8、0.6、0.4、0.2、0.1 μmol/mL 的标准液待测，现用现配。
- 操作表（在 96 孔板中加入如下试剂）：

试剂名称	对照管（μL）	测定管（μL）	标准管（μL）	空白管（μL）
样品	40	40		
标准溶液			40	
蒸馏水				40
AK364-A	150	150	150	150
AK364-B		10	10	10
无水乙醇	10			

混匀，室温准确反应 10min，测定 412nm 吸光值，分别记为 A 对照、A 测定、A 标准、A 空白，计算 ΔA 测定 = A 测定 - A 对照， ΔA 标准 = A 标准 - A 空白。每个测定管需设一个对照管，标准曲线和空白管只需测 1-2 次。

计算公式：

1. 标准曲线的绘制：根据标准管的浓度 (x , $\mu\text{mol/mL}$) 和吸光度 ΔA 标准 (y , ΔA 标准)，建立标准曲线；再根据标准曲线，将 ΔA 测定 (y , ΔA 测定) 带入公式计算样本浓度 (x , $\mu\text{mol/mL}$)。

2. 非蛋白质巯基含量计算：

(1) 按样本质量计算

$$\text{非蛋白质巯基含量 } (\mu\text{mol/g 质量}) = x \times V_{\text{提取}} \div W = x \div W$$

(2) 按血清、培养液体积计算

$$\text{非蛋白质巯基含量 } (\mu\text{mol/mL}) = x \times (V_{\text{提取}} + V_{\text{液体}}) \div V_{\text{液体}} = 11 \times x$$

(3) 按细胞数量计算

$$\text{非蛋白质巯基含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = x \times V_{\text{提取}} \div 500 = 0.002 \times x$$

注： $V_{\text{提取}}$ ：加入提取液体积，1mL； W ：样本质量，g； C_{pr} ，样本蛋白浓度，mg/mL；500：500万个细胞；

$V_{\text{液体}}$ ：血清（浆）或培养液体积，0.1mL。