



非蛋白质巯基测定检测试剂盒

NPSH Assay Kit

分光光度法

产品编号: AK364V

产品规格: 50T/24S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES364	50mL×1 瓶	2-8℃保存
AK364-A	45 mL×1 瓶	2-8℃保存
AK364-B	3mL×1 瓶	4℃避光保存
AK364-标准品	粉剂×1 支	临用前加入 1.65 mL ES364 配制成 50 μmol/mL 的标准溶液备用, 4℃保存可保存 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、恒温水浴锅、天平、研钵、1mL 玻璃比色皿、乙醇和蒸馏水。

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。
- 血清, 培养液: 取 0.1mL 样本, 加入 0.4mL 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:

- 分光光度计预热 30min, 调节波长至 412nm, 双蒸水调零。
- 标准品的制备: 将 50μmol/mL 标准溶液用提取液稀释至 1、0.8、0.6、0.4、0.2、0.1μmol/mL, 的标准液待测, 现用现配。
- 操作表 (在 1mL 玻璃比色皿中加入如下试剂):

试剂名称	对照管 (μL)	测定管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
样品	200	200		
标准溶液			200	
蒸馏水				200
AK364-A	750	750	750	750
AK364-B		50	50	50
乙醇	50			

混匀, 25℃静置 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, 算 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。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

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

V 提取：加入提取液体积，1mL；W：样本质量，g；Cpr，样本蛋白浓度，mg/mL；500：500 万个细胞；

V 液体：血清（浆）或培养液体积，0.1mL。