

非蛋白质巯基含量检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1095

产品规格：50管/24样

产品简介：

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。

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。

技术指标：

最低检出限：0.0007 μ mol/mL

线性范围：0.003125-0.3 μ mol/mL

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品内容：

| 试剂名称 | 规格 | 保存条件 |
|------|-----------|------|
| 提取液一 | 液体25mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 提取液二 | 液体25mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 试剂一 | 液体50mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 试剂二 | 粉剂×1瓶 | 2-8℃ |
| 标准品 | 粉剂×1支 | 2-8℃ |

溶液的配制：

1. 提取液的配制：将提取液一和提取液二按体积比1：1的比例混合配制，按照样本数量配制并在当天用完；
2. 试剂二：临用前加入5mL无水甲醇充分溶解备用；
3. 标准品：10mg半胱氨酸，临用前加入1.65mL提取液溶解为50 μ mol/mL的半胱氨酸标准溶液。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、离心机、恒温水浴锅、1mL玻璃比色皿、甲醇、研钵/匀浆器和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 动物、植物组织：称取约0.1g，加入1mL的提取液，制备成10%的匀浆，10000g，常温离心10min，取上清待测。
2. 细胞或细菌：按照细胞数量（ 10^4 个）：提取液体积（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300w，超声3秒，间隔7秒，总时间3min）然后10000g，常温离心10min，取上清置冰上待测。
3. 血清（浆），培养液：向0.1mL血清（浆）或培养液中加入1mL提取液，10000g，常温离心10min，取上清待测。

二、测定步骤



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

1. 分光光度计预热30min以上，调节波长至412nm，蒸馏水调零。
2. 标准品的制备：将50 $\mu\text{mol/mL}$ 标准溶液用提取液稀释至0.3、0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625、0.003125 $\mu\text{mol/mL}$ 的标准液，现用现配。
3. 操作表：

| | 对照管 | 测定管 | 标准管 | 空白管 |
|-----------------------|------|------|------|------|
| 上清液 (mL) | 0.3 | 0.3 | - | - |
| 标准品 (mL) | - | - | 0.3 | - |
| 试剂一 (mL) | 0.65 | 0.65 | 0.65 | 0.65 |
| 试剂二 (mL) | - | 0.1 | 0.1 | - |
| H ₂ O (mL) | 0.1 | - | - | 0.4 |

混匀，室温放置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。

二、计算公式

1. 标准曲线的绘制：以标准液浓度为x轴， ΔA 标准为y轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定代入公式得到x ($\mu\text{mol/mL}$)。
2. 非蛋白质巯基含量计算：
 - (1) 按样本质量计算
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
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
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。

注意事项：

如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司
Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com