

## 非蛋白质巯基含量检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1096

产品规格：100管/48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：0.0061  $\mu\text{mol/mL}$

线性范围：0.00625-0.8  $\mu\text{mol/mL}$

**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30mL×1瓶	2-8℃
提取液二	液体30mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体30mL×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2mL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 $\mu\text{mol/mL}$ 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/酶标仪、离心机、恒温水浴锅、微量玻璃比色皿/96孔板、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。



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

## 二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热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0.4、0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625 $\mu\text{mol/mL}$ 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 ( $\mu\text{L}$ )	60	60	-	-
标准品 ( $\mu\text{L}$ )	-	-	60	-
试剂一 ( $\mu\text{L}$ )	130	130	130	130
试剂二 ( $\mu\text{L}$ )	-	20	20	-
H <sub>2</sub> O ( $\mu\text{L}$ )	20	-	-	80

混匀，室温放置10min，吸取200  $\mu\text{L}$ 于微量比色皿/96孔板中测定412nm吸光值，分别记为A对照、A测定、A标准、A空白，计算  $\Delta A$ 测定=A测定-A对照，算  $\Delta A$ 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， $\Delta A$ 标准为y轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 $\Delta A$ 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<sub>提取</sub>：加入提取液体积，1mL；W：样本质量，g；C<sub>pr</sub>，样本蛋白浓度，mg/mL；500：500万个细胞；V<sub>液体</sub>：血清（浆）或培养液体积，0.1mL。

## 注意事项：

1. 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