

蛋白酶羰基含量检测试剂盒（紫外分光光度法）

产品货号：BA1073

产品规格：50管/24样

产品说明：

蛋白质羰基是多种氨基酸在蛋白质的氧化修饰过程中的早期标志，其含量高低表明蛋白质氧化损伤程度的大小，是衡量蛋白质氧化损伤的主要指标。

羰基与2,4-二硝基苯肼反应生成红色2,4-二硝基苯腙，在370nm处有特征吸收峰。

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：

提取液：液体25mL×1瓶，4℃保存；

试剂一：粉剂0.1g×3支，4℃保存。（使用前根据样品数，每支加1mL水溶解，每支为10个样品用量）

试剂二：液体10mL×1瓶，4℃避光保存。

试剂三：液体10mL×1瓶，4℃保存。

试剂四：液体25mL×1瓶，4℃保存。

试剂五：根据测定样品量，将乙酸乙酯和无水乙醇等体积混合。（自备）

试剂六：液体50mL×1瓶，4℃保存。

需自备的仪器和用品：

天平、恒温水浴锅、低温离心机、漩涡震荡仪、紫外分光光度计、1mL石英比色皿、蒸馏水、无水乙醇和乙酸乙酯。

操作步骤：

一、样本处理

组织样品：称取约0.1g组织样品，加入1mL提取液，充分匀浆后于4℃，5000rpm离心10min，取上清，加入0.1mL试剂一，室温放置10min，4℃，12000rpm离心10min，取上清，然后取20μL测定蛋白含量，剩余的作为待测样品。

二、测定步骤

	空白管	测定管
样品（mL）	0.2	0.2
试剂二（mL）		0.4
试剂三（mL）	0.4	
混匀，37℃避光反应1h		
试剂四（mL）	0.5	0.5
静置5min，4℃，12000rpm离心15min，弃上清，留沉淀。		
试剂五（mL）	1.0	1.0
漩涡混匀，4℃，12000rpm离心10min，弃上清，留沉淀。重复3次。		
试剂六（mL）	1.0	1.0
漩涡混匀，37℃温育15min，沉淀全部溶解后，4℃，12000rpm离心15min，取上清1mL于石英比色皿，试剂六调零，测定OD ₃₇₀		



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

三、计算：

1、按蛋白浓度计算：

$$\begin{aligned}\text{蛋白质羰基含量} (\mu\text{mol}/\text{mg prot}) &= (\text{OD}_{370} \text{测定管} - \text{OD}_{370} \text{空白管}) \div (\varepsilon \times d) \times V \div (\text{Cpr} \times V \text{样品}) \\ &= (\text{OD}_{370} \text{测定管} - \text{OD}_{370} \text{空白管}) \div 4.4 \div \text{Cpr};\end{aligned}$$

2、按样本鲜重计算：

$$\begin{aligned}\text{蛋白质羰基含量} (\mu\text{mol}/\text{g 鲜重}) &= (\text{OD}_{370} \text{测定管} - \text{OD}_{370} \text{空白管}) \div (\varepsilon \times d) \times V \div (\text{W} \times V \text{样品} \div V \text{提取}) \\ &= (\text{OD}_{370} \text{测定管} - \text{OD}_{370} \text{空白管}) \div 4 \div \text{W}\end{aligned}$$

ε : 蛋白质羰基消光系数, $22\text{mL} \cdot \mu\text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$; d : 比色皿光径, 1cm ; V : 加入试剂六体积, 1mL ; V 样品: 加入样本体积, 0.2mL ; V 提取: 加入提取液及试剂一体积, 1.1mL ; Cpr : 样本蛋白质浓度, mg/mL 。 W : 样品质量, g 。

注意事项：

试剂一使用之前根据要测定的样品数现配，配置好后 4°C 保存，若变为黑色，则不能使用。

试剂二见光易分解，反应需严格避光。



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