

蛋白酶羰基含量检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1074

产品规格：100管/48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50mL×1瓶，4℃保存；

试剂一：粉剂0.1g×5支，4℃保存。（使用前根据样品数，每支加1mL水震荡溶解后离心取上清液使用，每支为10个样品用量）

试剂二：液体6mL×1瓶，4℃避光保存。

试剂三：液体6mL×1瓶，4℃保存。

试剂四：液体15mL×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30mL×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/酶标仪、微量石英比色皿/96孔UV板、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、测定步骤和操作表

1. 分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至370nm，试剂六调零。
2. 操作表

	对照管	测定管
样品（μL）	60	60
试剂二（μL）		120
试剂三（μL）	120	
混匀，37℃避光反应1h		
试剂四（μL）	150	150
静置5min，4℃，12000rpm离心15min，弃上清，留沉淀。		
试剂五（μL）	300	300
漩涡混匀，4℃，12000rpm离心10min，弃上清，留沉淀。重复3次。		



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

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

试剂六 (μL)	300	300
漩涡混匀, 37°C温育15min, 沉淀全部溶解后, 4°C, 12000rpm离心15min, 取上清200 μL, 微量石英比色皿/96孔板, 试剂六调零, 测定OD ₃₇₀		

三、计算:

a) 用微量石英比色皿测定的计算公式如下:

1. 按蛋白浓度计算:

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

2. 按样本鲜重计算:

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

ε: 蛋白质羰基消光系数, 22mL·μmol⁻¹·cm⁻¹; d: 比色皿光径, 1cm; V: 加入试剂六体积, 0.3mL; V样品: 加入样本体积, 0.06mL; 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。

b) 用96孔UV板测定的计算公式如下: d:光径, 0.6cm。

注意事项:

1. 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。
2. 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