



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

非蛋白质巯基含量检测试剂盒（微量法）

货号: R42004

规格: 100T/48S

有效期: 6个月

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES364	60mL×1瓶	2-8℃保存
试剂-A	20 mL×1瓶	2-8℃保存
试剂-B	粉剂×1支	2-8℃保存; 临用前加入1.5 mL无水乙醇充分溶解备用, 2-8℃可保存两个月
标准品	粉剂×1支	2-8℃保存; 临用前加入1.65mL提取液配制成50 μmol/mL的标准溶液备用, 2-8℃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/酶标仪、台式离心机、微量玻璃比色皿/96 孔板、天平、研钵、超声破碎仪、无水乙醇、冰和蒸馏水。

样品制备:

1. 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。



2. 细胞或细菌: 按照细胞数量 (10^4 个): ES364 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 200w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min), 然后8000g, 4℃离心10min, 取上清置冰上待测。

3. 血清、培养液: 取 0.1mL 样本, 加入 1mL 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:

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min, 调节波长至 412nm, 分光光度计用蒸馏水调零。

2. 标准溶液的制备: 将 50 $\mu\text{mol/mL}$ 标准溶液用提取液稀释至 1、0.8、0.6、0.4、0.2、0.1 $\mu\text{mol/mL}$ 的标准液待测, 现用现配。

3. 操作表 (在 96 孔板中加入如下试剂)

试剂名称	对照管(μL)	测定管(μL)	标准管(μL)	空白管(μL)
样品	40	40		
标准溶液			40	
蒸馏水				40
试剂-A	150	150	150	150
试剂-B		10	10	10
无水乙醇	10			
混匀, 室温准确反应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 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。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 $\Delta A_{\text{标准}}$ (y , $\Delta A_{\text{标准}}$), 建立标准曲线; 再根据标准曲线, 将 $\Delta A_{\text{测定}}$ (y , $\Delta A_{\text{测定}}$) 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

非蛋白质巯基含量 ($\mu\text{mol/g}$ 质量) = $x \times V_{\text{提取}} \div W = x \div W$



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

(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 ($\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}$) = $x \times V_{\text{提取}} \div 500 = 0.002 \times x$

注: $V_{\text{提取}}$: 加入提取液体积, 1mL; W : 样本质量, g; C_{pr} , 样本蛋白浓度, mg/mL; 500: 500 万个细胞; $V_{\text{液体}}$: 血清 (浆) 或培养液体积, 0.1mL。



源叶