



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（分光光度法）

货号: R42005

规格: 50T/24S

有效期: 6个月

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES364	50mL×1瓶	2-8℃保存
试剂-A	45 mL×1瓶	2-8℃保存
试剂-B	3mL×1瓶	4℃避光保存
标准品	粉剂×1支	临用前加入1.65 mL ES364配制成50 μmol/mL 的标准溶液备用, 4℃保存可保存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、恒温水浴锅、天平、研钵、1mL 玻璃比色皿、乙醇和蒸馏水。

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. 血清, 培养液: 取 0.1mL 样本, 加入 0.4mL 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. 分光光度计预热 30min, 调节波长至 412nm, 双蒸水调零。
2. 标准品的制备: 将 50 μ mol/mL 标准溶液用提取液稀释至 1、0.8、0.6、0.4、0.2、0.1 μ mol/mL, 的标准液待测, 现用现配。
3. 操作表 (在 1mL 玻璃比色皿中加入如下试剂)

试剂名称	对照管(μ L)	测定管(μ L)	标准管(μ L)	空白管(μ L)
样品	200	200		
标准溶液			200	
蒸馏水				200
试剂-A	750	750	750	750
试剂-B		50	50	50
乙醇	50			
混匀, 25℃静置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 $\Delta A_{\text{测定}}=A_{\text{测定}}-A_{\text{对照}}$, 算 $\Delta A_{\text{标准}}=A_{\text{标准}}-A_{\text{空白}}$ 。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 , μ mol/mL) 和吸光度 ΔA 标准 (y , ΔA 标准), 建立标准曲线。根据标准曲线, 将 ΔA 测定 (y , ΔA 测定) 带入公式计算样本浓度 (x , μ mol/mL)。

2. 非蛋白质巯基含量计算:

(1) 按样本质量计算

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

(2) 按血清、培养液体积计算

$$\text{非蛋白质巯基含量 } (\mu\text{mol/mL}) = x \times (V_{\text{提取}} + V_{\text{液体}}) \div V_{\text{液体}} = 11 \times x$$

(3) 按细胞数量计算

$$\text{非蛋白质巯基含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = x \times V_{\text{提取}} \div 500 = 0.002 \times x$$



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

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。



源叶