

总巯基含量检测试剂盒 (分光光度计法)
(本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0285	总巯基含量检测试剂盒	50 管/24 样

产品内容

名称	规格	储存条件
试剂一	液体 40mL × 1 瓶	4℃
试剂二	液体 2mL × 1 瓶	4℃, 避光

一、产品说明

生物体内巯基主要包括谷胱甘肽巯基和蛋白质巯基。前者不仅能够修复氧化损伤的蛋白质, 而且参与活性氧清除, 后者对于维持蛋白质构象具有重要作用。通过测定总巯基含量和 GSH 含量, 能够间接测定蛋白质巯基含量。

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。

二、自备材料

天平、研钵、可见分光光度计、恒温水浴锅、1mL 玻璃比色皿、乙醇和蒸馏水。

三、样品准备

- 1、组织: 按照组织质量 (g) : 蒸馏水体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 水) 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: 稀释 5 倍后测定, 可取 0.1mL 样本, 加入 0.4mL 蒸馏水, 混匀, 置冰上待测。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 412nm, 双蒸水调零。
- 2、操作表:

试剂名称 (μL)	对照管	测定管
样品	200	200
试剂一	750	750
试剂二		50
乙醇	50	

混匀, 25℃ 静置 10min, 测定 412nm 吸光值, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。每个测定管设一个对照管。

五、含量计算公式

总巯基标准曲线: $y = 3.6222x - 0.0037$, $R^2 = 1$, x 为标品浓度, 单位 $\mu\text{mol/mL}$, y 为吸光度 ΔA 。

1、按照样本蛋白浓度计算:

$$\begin{aligned} \text{总巯基含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) &= (\Delta A + 0.0037) \div 3.6222 \times V_{\text{样总}} \div \text{Cpr} \\ &= 0.276 \times (\Delta A + 0.0037) \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

2、按照样本鲜重计算:

$$\begin{aligned} \text{总巯基含量 } (\mu\text{mol/g 鲜重}) &= (\Delta A + 0.0037) \div 3.6222 \times V_{\text{样总}} \div W \\ &= 0.276 \times (\Delta A + 0.0037) \div W \end{aligned}$$

3、按照液体体积计算:

$$\begin{aligned} \text{总巯基含量 } (\mu\text{mol/L}) &= (\Delta A + 0.0037) \div 3.6222 \times 5 \times 10^3 \\ &= 1380 \times (\Delta A + 0.0037) \end{aligned}$$

$V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; W : 样品质量, g; Cpr : 样本蛋白浓度, mg/mL;

5: 血清, 培养液等液体样本稀释倍数; 10^3 : $1\text{mmol/L} = 10^3 \mu\text{mol/L}$ 。

六、注意事项

1、最低检出限为 $10\mu\text{mol/L}$ 。