

非蛋白巯基测定试剂盒说明书

分光光度法 50 管/24 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

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。

测定原理：

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。

组成：

| 产品名称 | AO017-50T/24S | Storage |
|--------|---------------|---------|
| 提取液：液体 | 50ml | 4°C |
| 试剂一：液体 | 40ml | 4°C |
| 试剂二：液体 | 2ml | 4°C避光 |
| 说明书 | 一份 | |

自备仪器和用品：

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。

样品的制备：

- 按照组织质量 (g)：提取液体积(ml)为 1: 5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1ml 提取液）进行冰浴匀浆，然后 8000g，4°C离心 10min，取上清，置冰上待测。
- 血清、培养液：取 0.1ml 样本，加入 0.4ml 提取液，混匀，室温静置 10min，然后 8000g，4°C离心 10min，取上清，置冰上待测。

测定操作表：

1、分光光度计预热 30min，调节波长至 412nm，双蒸水调零。

2、操作表

在 1ml 玻璃比色皿中加入如下试剂

| | 对照管 | 测定管 |
|--|-----|-----|
| | | |

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司

江苏省连云港市海州区花果山大道 17 号



服务热线：0518-81263339

官网：<http://www.bio149.com>

| | | |
|---|-----|-----|
| 样品 (μl) | 200 | 200 |
| 试剂一 (μl) | 750 | 750 |
| 试剂二 (μl) | | 50 |
| 乙醇 (μl) | 50 | |
| 混匀, 25°C静置 10min, 测定 412nm 吸光值, ΔA=A 测定-A 对照。每个测定管设一个对照管。 | | |

计算公式:

非蛋白巯基标准曲线: $y = 3.6222x - 0.0037$, $R^2 = 1$, x 为标品浓度, 单位 μmol/ml, y 为吸光度 ΔA。

1. 组织:

(1) 按样本重量计算

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

(2) 按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{非蛋白巯基含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) &= (\Delta A + 0.0037) \div 3.6222 \times V \text{ 样总} \div C_{pr} \\ &= 0.276 \times (\Delta A + 0.0037) \div C_{pr} \end{aligned}$$

2. 血清、培养液:

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

V 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 : 1mmol/L=10³μmol/L

注意事项:

最低检出限为 10μmol/L。

