

## 总巯基含量检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1471

产品规格：50管/24样

### 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。

**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：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体40mL×1瓶	4℃
试剂一	液体55mL×1瓶	4℃
试剂二	液体2.5mL×1瓶	4℃
标准品	粉剂×1支	4℃

### 溶液的配制：

标准品：10mg还原型谷胱甘肽（GSH），临用前加入1.3 mL蒸馏水，浓度为25 $\mu$ mol/mL，4℃保存。

### 技术指标：

最低检出限：0.0048 $\mu$ mol/mL

线性范围：0.0078-0.5 $\mu$ mol/mL

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、恒温水浴锅、天平、研钵/匀浆器、1mL玻璃比色皿和蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

动物、植物组织：称取约0.1g，加入1mL的提取液，制备成10%的匀浆，8000g，常温离心10min，取上清待测。

血清，培养液：直接测定。

#### 二、测定步骤

- 分光光度计预热30min以上，调节波长至412nm，蒸馏水调零。
- 标准品的制备：将25 $\mu$ mol/mL标准溶液用蒸馏水稀释至0.5、0.25、0.125、0.0625、0.03125、0.015625 $\mu$ mol/mL的标准液，现用现配。
- 操作表

	对照管	测定管	标准管	空白管
样本（mL）	0.2	0.2		
标准品（mL）			0.2	



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

试剂一 (mL)	0.75	0.75	0.75	0.75
试剂二 (mL)		0.05	0.05	
H <sub>2</sub> O (mL)	0.05			0.25
混匀，室温10min，测定412nm吸光值，分别记为A对照、A测定、A标准、A空白。并计算 $\Delta A$ 标准=A标准-A空白、 $\Delta A$ 测定=A测定-A对照。				

### 三、计算公式

#### 1. 标准曲线的绘制:

以标准液浓度为x轴， $\Delta A$ 标准为y轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 $\Delta A$ 测定代入公式得到x ( $\mu\text{mol/mL}$ )。

#### 2. 总巯基含量计算:

(1) 按样本质量计算: 总巯基含量 ( $\mu\text{mol/g}$ 质量) =  $x \times V_{\text{样总}} \div W = x \div W$

(2) 按样本蛋白浓度计算: 总巯基含量 ( $\mu\text{mol/mg prot}$ ) =  $x \times V_{\text{样总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样总}}) = x \div C_{\text{pr}}$

(3) 按血清、培养液体积计算: 总巯基含量 ( $\mu\text{mol/L}$ ) =  $x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times 10^{-3}) = 1000x$

V样总: 加入提取液体积, 1mL; V样: 加入的样本体积, 0.2mL; W: 样本质量, g; Cpr, 样本蛋白浓度, mg/mL;  $10^{-3}$ : 单位换算系数, 1mL =  $10^{-3}$ L。

#### 注意事项:

如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**  
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com