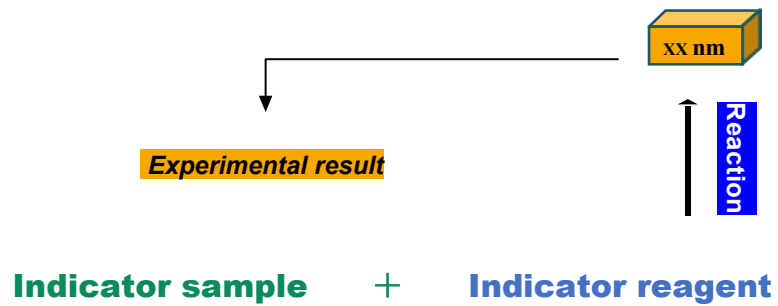


上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

## 总巯基含量检测试剂盒说明书

### 微量法

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂一	液体 20 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂二	液体 1 mL×1 支	4℃避光保存	-
标准品	粉剂×1 支	4℃保存	10mg 还原型谷胱甘肽 (GSH)。临用前加1.3mL 蒸馏水，浓度为 25μmol/mL，取一部分稀释成 0.5μmol/mL 待测，其余 4℃保存

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。

自备实验用品：

天平、研钵、恒温水浴锅、可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板和蒸馏水。

操作步骤：

#### 一、样品的制备：

- ① 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。
- ② 血清，培养液：直接测定。

#### 二、测定步骤：

- 1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 412nm，蒸馏水调零。

## 2、操作表

	对照管	测定管	标准管	空白管
样品 (μL)	40	40		
标准品 (μL)			40	40
试剂一 (μL)	150	150	150	150
试剂二 (μL)		10	10	
H <sub>2</sub> O (μL)	10			10

混匀，室温 10min，双蒸水调零，微量玻璃比色皿/96 孔板，测定 412nm 吸光值，分别记为 A 对照、A 测定、A 标准、A 空白。

## 三、计算公式：

### 1、组织：

#### (1) 按样本鲜重计算

$$\begin{aligned} \text{总巯基含量} (\mu\text{mol/g 鲜重}) &= 0.5 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 对照}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times V \text{ 样总} \div W \\ &= 0.5 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 对照}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W \end{aligned}$$

#### (2) 按样本蛋白浓度计算

$$\text{总巯基含量} (\mu\text{mol/mg prot}) = 0.5 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 对照}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div C_{pr}$$

### 2、血清、培养液：

$$\begin{aligned} \text{总巯基含量} (\mu\text{mol/L}) &= 0.5 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 对照}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times 1000 \\ &= 250 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 对照}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \end{aligned}$$

0.5：标准品还原型谷胱甘肽的浓度，μmol/mL； V 样总：加入提取液体积，1mL； W：样品质量，g； C<sub>pr</sub>：样本蛋白浓度，mg/mL； 1000：单位换算系数，1L=1000mL。