

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

总巯基测定试剂盒说明书

可见分光光度法

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。

测定意义

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。

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。

自备实验用品

天平、研钵、可见分光光度计、恒温水浴锅、1mL 玻璃比色皿和蒸馏水。

试剂组成和配制

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 50mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂一	液体 40mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂二	液体 3mL×1 瓶	4℃避光保存	-

样品的制备

(1) 动物、植物组织：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℃离心 10min，取上清置冰上待测。

(2) 血清，培养液：直接测定。

操作步骤

	对照管	测定管
样品 (μL)	200	200
试剂一 (μL)	750	750
试剂二 (μL)		50
H ₂ O (μL)	50	
混匀，25℃静置 10min，1cm 光径玻璃比色皿，双蒸水调零，测定 412nm 吸光值， ΔA=A 测定-A 对照。		

计算公式

总巯基标准曲线： $y = 1.7236 x, R^2 = 0.9994$

1. 组织：

(1) 按样本质量计算

$$\text{总巯基含量 } (\mu\text{mol/g}) = \Delta A \div 1.7236 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) = 2.9 \times \Delta A \div W$$

(2) 按样本蛋白浓度计算

$$\text{总巯基含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = \Delta A \div 1.7236 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) = 2.9 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

2. 血清、培养液：

$$\text{总巯基含量 } (\mu\text{mol/L}) = \Delta A \div 1.7236 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \times 10^3 = 2900 \times \Delta A$$



V 反总: 反应总体积, 1mL; V 样: 反应中样品体积, 0.2mL; 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; 10^3 : 1mmol/ L= 10^3 μ mol/ L

注意事项

最低检出限为 10 μ mol/L。

Shanghai ZCIBIO Technology Co.,Ltd.
TEL:021-65681082 Email:zcibio@163.com www.zcibio.com