

# 非蛋白质巯基检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1062

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

检测范围：0.0156-1μmol/mL 灵敏度：0.0078 μmol/mL

适用样本：动植物组织、细胞、细菌、血清（浆）、培养基等液体样本

## 产品简介

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。本试剂盒提供了一种简单的检测方法，用于检测各种生物样本中非蛋白质巯基含量，其原理是特制的提取液可以去除样本中的蛋白质，非蛋白质巯基基团与 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。在一定的浓度范围内，巯基含量与 412nm 吸光度成线性关系，根据标准曲线，即可计算出样品中非蛋白质巯基含量。

## 产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
反应缓冲液	9mL	18mL	4℃保存
显色物	2.5mL	5mL	4℃避光保存
标准品（半胱氨酸）	1 支	2 支	4℃保存

## 自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 412nm 处的吸光度）

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

制冰机、低温离心机

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

## 试剂准备

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

反应缓冲液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

显色物：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

标准品：含 10mg 半胱氨酸/支，临用前加入 1.65mL 提取液配制成 50μmol/mL 的半胱氨酸标准溶液备用，4℃可保存 1 个月。

标准曲线设置：按下表所示用蒸馏水将 50μmol/mL 标准溶液用提取液稀释至 1、0.5、0.25、0.125、0.0625、0.0313、0.0156 μmol/mL 的标准液。

	标准品体积	提取液体积 (μL)	标准品浓度 (μmol/mL)
Std. 1	5μL 50μmol/mL	245	1
Std. 2	100 μL of Std. 1 (1μmol/mL)	100	0.5
Std. 3	100 μL of Std. 2 (0.5μmol/mL)	100	0.25
Std. 4	100 μL of Std. 3 (0.25μmol/mL)	100	0.125
Std. 5	100 μL of Std. 4 (0.125μmol/mL)	100	0.0625

## 产品说明书

Std. 6	100 $\mu$ L of Std. 5 (0.0625 $\mu$ mol/mL)	100	0.0313
Std. 7	100 $\mu$ L of Std. 6 (0.0313 $\mu$ mol/mL)	100	0.0156

**注意：每次实验，请使用新配制的标准品；配制好的标准品需要在 4h 之内使用。**

### 样本制备

组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，8000g，4℃离心 10min，取上清液待测。

细胞或细菌：收集 500 万细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；加入 1mL 提取液超声波破碎细菌或细胞 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次）；8000g，4℃离心 10min，取上清液待测。

血清（浆）、培养液等液体样本：取 0.1mL 血清（浆）、培养液等液体样本，加入 1mL 提取液，混匀。8000g，4℃离心 10min，取上清液待测。

**注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 6 个月。**

### 实验步骤

1. 酶标仪预热 30 min 以上，调节波长到 412nm；
2. 样本测定（在 96 孔板中依次加入下列试剂）：

试剂 ( $\mu$ L)	空白孔	标准孔	测定孔	对照孔
样本	0	0	40	40
提取液	40	0	0	0
标准品	0	40	0	0
反应缓冲液	120	120	120	160
显色物	40	40	40	0

混匀，室温静置 10min，测定 412nm 吸光值。计算  $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 、 $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。（空白管只需做 1 管，设置对照孔是为了扣除样本本身的颜色，如果样本没有明显颜色就不用设置对照孔， $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ）

**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  $\Delta A_{\text{测}}$  小于 0.005 可适当加大样本量。如果  $\Delta A_{\text{测}}$  大于 2.0，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。**

### 结果计算

#### 1. 标准曲线的绘制

以标准液浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标}}$  为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将  $\Delta A_{\text{测}}$  带入 x 计算出 y（ $\mu$ mol/mL）。

#### 2. 样本非蛋白质巯基含量计算

（1）按样本质量计算：

非蛋白质巯基含量（ $\mu$ mol/g 质量）=  $y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div W \times n$

（2）按血清、培养液体积计算：

非蛋白质巯基含量（ $\mu$ mol/mL）=  $y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{液}} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = 10y \times n$

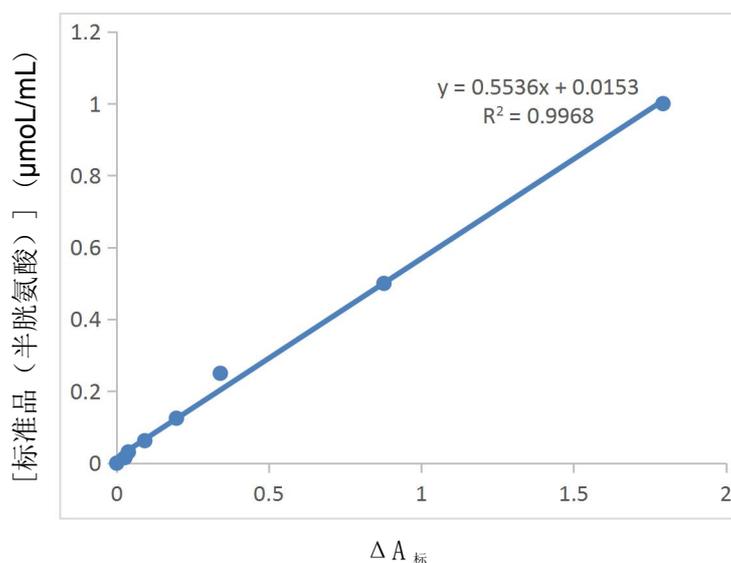
（3）按照细菌或细胞数量计算：

非蛋白质巯基含量（ $\mu$ mol/ $10^4$  cell）=  $y \times V_{\text{样}} \div (\text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div 500 \times n = 0.002y \times n$

$V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； $V_{\text{样}}$ ：加入的样本体积，0.04mL；W：样本质量，g； $V_{\text{液}}$ ：液体样本体积，0.1mL；500：细胞数量，500 万；n：稀释倍数。

### 结果展示

典型标准曲线-以下数据和曲线仅供参考，实验者需根据自己的实验建立标准曲线。



### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品：

- PMK1057 总巯基检测试剂盒（微量法）
- PMK1023 还原型谷胱甘肽（GSH）检测试剂盒（微量法）
- PMK1051 总抗氧化能力（TAC）检测试剂盒（微量法）
- PMK1052 羟自由基清除能力检测试剂盒（微量法）
- PMK1053 植物类黄酮检测试剂盒（微量法）
- PMK1055 植物原花青素（OPC）检测试剂盒（微量法）
- PMK1054 植物总酚（Tp）检测试剂盒（微量法）
- PMK1061 超氧阴离子清除能力检测试剂盒（微量法）
- PMK1050 铜蓝蛋白（Cp）检测试剂盒（微量法）



更多产品详情了解，请关注公众号：