

CheKine™ 蛋白质羰基含量检测试剂盒（微量法）

货号: KTB1200

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 动植物组织、细胞、细菌、血清（浆）
	保质期: 4℃, 避光保存 6 个月

01 背景与原理

蛋白质羰基是多种氨基酸在蛋白质氧化修饰过程中的早期标志, 其含量高低表明蛋白质氧化损伤程度的大小, 是衡量蛋白质氧化损伤的主要指标。

本试剂盒检测原理是羰基与 2,4-二硝基苯肼反应生成红色 2,4-二硝基苯腙, 在 370 nm 处有特征吸收峰。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	120 mL	4℃
Antioxidant	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃, 避光保存
Chromogen	7.5 mL	15 mL	4℃, 避光保存
HCl	7.5 mL	15 mL	4℃
TCA	18 mL	36 mL	4℃
Guanidine Hydrochloride	36 mL	72 mL	4℃

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 370 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	UV 板
试剂	PBS/无水乙醇、乙酸乙酯	清洗样本/检测用
其他	匀浆器（组织样本）、恒温箱、冰盒、低温离心机、 可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有 助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 **2-3** 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Working Antioxidant	临用前配制；称取 0.1 g 加 1 mL 去离子水溶解配制，每 1 mL 为 10 个样品用量	现用现配。有一定毒性，注意防护
Chromogen	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存。有一定毒性，注意防护
HCl	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
TCA	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存。有刺激性气味，建议在通风橱进行实验
Guanidine Hydrochloride	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存。有刺激性气味，建议在通风橱进行实验

05-2 样本制备

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 1 个月。

- 动植物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，4000 g，4℃离心 10 min，取上清液，加 0.1 mL Working Antioxidant，室温放置 10 min 后，10000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。

- **细胞或细菌样本**：收集 5×10^6 个细胞，用冷的 PBS 清洗细胞或细菌，800 g 离心 2 min 后弃上清，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴超声波破碎 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），然后 10000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
- **血清（浆）**：直接测定。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备**：预热 30 min 以上，调节波长到 370 nm。
2. **检测体系配制**：在 1.5 mL EP 管中按照如下方式操作，每个测定管均需设置一个对照管。

试剂	对照管 (μL)	测定管 (μL)
样本	60	60
Chromogen	0	120
HCl	120	0
混匀，37℃避光反应 1 h		
TCA	150	150
静置 5 min，12000 g，4℃离心 15 min，弃上清，留沉淀		
无水乙醇	150	150
乙酸乙酯	150	150
漩涡混匀，12000 g，4℃离心 15 min，弃上清，留沉淀，重复 3 次		
Guanidine Hydrochloride	300	300

3. 漩涡混匀，37℃孵育 15 min，沉淀全部溶解后，12000 g，4℃离心 15 min。
4. **吸光度检测**：取上清 200 μL 于 96 孔 UV 板中，370 nm 处测定吸光值，分别标记为 $A_{\text{对照}}$ 和 $A_{\text{测定}}$ 。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn)进入“技术中心”查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

2. 样本蛋白质羰基含量计算

● 按样本质量计算

蛋白质羰基含量(μmol/g) = $[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d)] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = 0.454 \times \Delta A \div W \times n$

● 按细胞或细菌数量计算：

蛋白质羰基含量(μmol/10⁴) = $[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d)] \div (N \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = 0.454 \times \Delta A \div N \times n$

● 按液体体积计算

蛋白质羰基含量($\mu\text{mol/mL}$)= $[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d)] \div V_{\text{样}} \times n = 0.454 \times \Delta A \times n$

● 按蛋白浓度数量计算

蛋白质羰基含量($\mu\text{mol/mg prot}$)= $[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d)] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \times n = 0.454 \times \Delta A \div \text{Cpr} \times n$

$V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 0.3 mL; ϵ : 羰基摩尔消光系数, 22 mL/ $\mu\text{mol/cm}$; d : 96 孔板光径, 0.5 cm; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.06 mL; $V_{\text{样总}}$: 加入 Extraction Buffer 体积, 1 mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL, W : 样本质量, g; N : 细胞或细菌数量, 以 10^4 为单位 (例如细胞数量为 5×10^6 , $N=500$); n : 样本稀释倍数。

07 结果展示

示例 -1: 取 0.1 g 小鼠肾脏, 按照测定步骤操作, 用 96 孔 UV 板进行检测。测得 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.103 - 0.071 = 0.032$ 。按样本质量计算得: 蛋白质羰基含量 ($\mu\text{mol/g}$)= $[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d)] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = 0.454 \times \Delta A \div W \times n = 0.145 \mu\text{mol/g}$ 。

08 FAQ

● 检测得到的样本 ΔA 过高或者过低怎么办?

如果样本 $\Delta A > 0.8$, 则说明样本蛋白质羰基含量太高, 需用 Extraction Buffer 适当稀释 (计算公式中乘以相应稀释倍数) 或减少提取用样本量。如果样本的 $\Delta A < 0.005$, 可适当提高样本量。

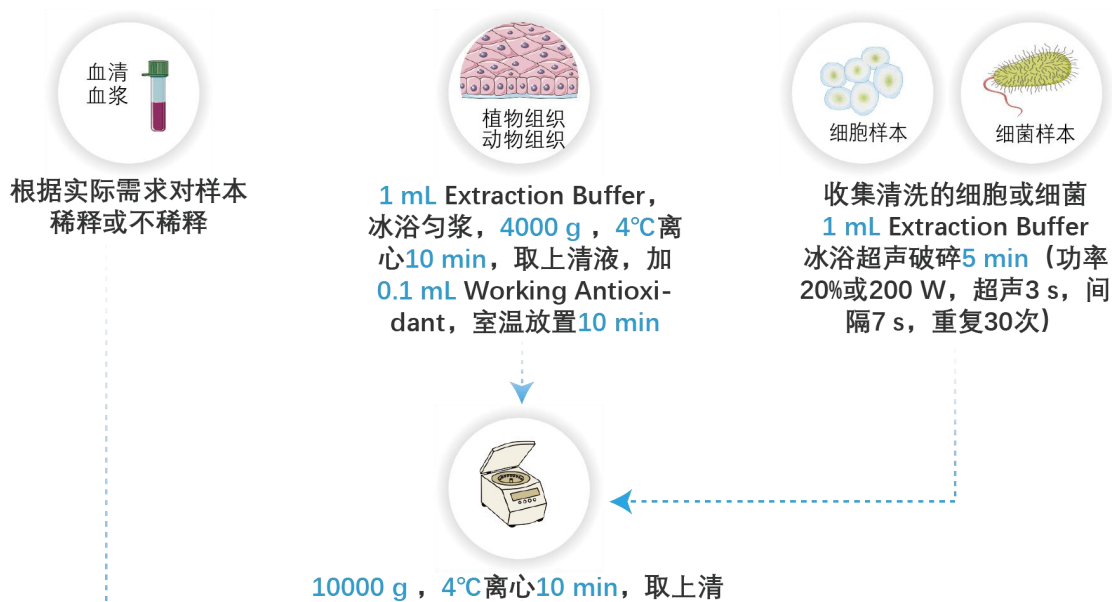
09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1500	CheKine™ 总抗氧化能力 (TAC) 检测试剂盒 (微量法)
KTB1030	CheKine™ 超氧化物歧化酶 (SOD) 分析试剂盒 (微量法)
KTB1080	CheKine™ 超氧阴离子清除能力分析试剂盒 (微量法)
KTB1090	CheKine™ 羟自由基清除能力分析试剂盒 (微量法)

CheKine™ 蛋白质羰基含量检测流程示意图

(Abbkine 货号：KTB1200)

样本处理



体系配置



数据检测

涡旋混匀, 37°C孵育15 min, 沉淀全部溶解后, 12000 g, 4°C离心15 min

取上清200 μ L, 测定370 nm吸光度
结果计算