CheKine™ 非蛋白质巯基含量检测试剂盒（微量法）

Cat #: KTB1551 Size: 96 T/96 S

	非蛋白质巯基含量检测试剂盒（微量法）		
REF	**货号：**KTB1551	LOT	**批号：**见产品标签
	适用样本：动植物组织、血清（浆）或其他液体		
	保质期：4℃，避光保存 6 个月		

原理

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。CheKine™ 非蛋白质巯基含量检测试剂盒（微量法）提供了一种检测生物样品如动植物组织，血清或血浆中非蛋白质巯基的便捷方法。在该试剂盒中，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 412 nm 处有最大吸收峰。

包装清单

试剂盒组分	规格（96 T）	储存条件
Extraction Buffer	120 mL	4℃
Reagent Ⅰ	20 mL	4℃
Reagent Ⅱ	Powder×1 vial	4℃，避光保存
Standard	Powder×1 vial	4℃，避光保存

注意：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。

自备耗材

- 酶标仪或可见光分光光度计（能测 412 nm 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，无水乙醇
- 匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

Extraction Buffer：即用型；使用前，平衡到室温。4℃保存。

Reagent Ⅰ：即用型；使用前，平衡到室温。4℃保存。

Abbkine, Inc • • www.abbkine.com
Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

Reagent II：临用前配制；加入 3 mL 无水乙醇充分溶解备用。4℃避光保存一个月。

Standard：临用前配制；加入 1.65 mL Extraction Buffer 配制成 50 μmol/mL 的半胱氨酸标准品备用，4℃避光可保存 1 个月。

标准品制备：使用 50 μmol/mL 半胱氨酸标准液，按照下表所示，进一步稀释成标准品：

序号	Standard 体积	去离子水体积（μL）	浓度（μmol/mL）
Std.1	32 μL 50 μmol/mL Standard	968	1.6
Std.2	500 μL of Std.1 (1.6 μmol/mL)	500	0.8
Std.3	500 μL of Std.2 (0.8 μmol/mL)	500	0.4
Std.4	500 μL of Std.3 (0.4 μmol/mL)	500	0.2
Std.5	500 μL of Std.4 (0.2 μmol/mL)	500	0.1
Std.6	500 μL of Std.5 (0.1 μmol/mL)	500	0.05
Std.7	500 μL of Std.6 (0.05 μmol/mL)	500	0.025
Std.8	500 μL of Std.7 (0.025 μmol/mL)	500	0.0125
Std.9	500 μL of Std.8 (0.0125 μmol/mL)	500	0.0063
Blank	0	500	0

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 4 h 之内使用。

样本制备

注意：建议使用新鲜样本。如果不立即使用，可将样品在-80℃下保存一个月。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

1. 组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，8,000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
2. 血清（浆）等液体样本：向 0.1 mL 血清（浆）、培养液等液体样本中加入 0.5 mL Extraction Buffer，混匀，室温静置 10 min，然后 8,000g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。

注意：如需测定蛋白浓度，推荐使用 Abbkine 货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）进行样本蛋白质浓度测定。因磺基水杨酸会导致蛋白变性，样本需另行用去离子水按照步骤提取。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30 min 以上，调节波长到 412 nm，可见光分光光度计用去离子水调零。
2. 操作表（下述操作在 96 孔板或微量玻璃比色皿中进行）：

试剂	空白孔（μL）	标准孔（μL）	测定孔（μL）
样本上清	0	0	60
Standard	0	60	0
Reagent I	130	130	130
Reagent II	0	20	20
去离子水	80	0	0

3. 混匀后，25℃静置 10 min，测定 412 nm 处吸光度，空白孔记为 $A_{空白}$，标准孔记为 $A_{标准}$，测定孔记为 $A_{测定}$。计算$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{空白}$，$\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}$。

注意：标准曲线和空白孔只用测 1-2 次。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$\Delta A_{测定}$小于 0.01 可适当加大样

Abbkine, Inc • • www.abbkine.com
Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

本量。如果ΔA $_{测定}$大于 2.0，样本可用 Extraction Buffer 进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

注意：我们为您提供的计算公式，包括推导过程计算公式和简洁计算公式。两者完全相等。建议以加粗的简洁计算公式为最终计算公式。

1. 标准曲线的绘制

以标准溶液浓度为 x 轴，ΔA $_{标准}$为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程，将ΔA $_{测定}$带入方程得到 x (μmol/mL)。

2. 非蛋白质巯基含量的计算：

（1）按样本蛋白浓度计算：

非蛋白质巯基含量（μmol/mg prot)=x×V $_{样总}$÷Cpr**=x÷Cpr**

（2）按样本鲜重计算：

非蛋白质巯基含量（μmol/g 鲜重)=x×V $_{样总}$÷W**=x÷W**

（3）按样本体积计算：

非蛋白质巯基含量（μmol/mL)**=x×5**

V $_{样总}$：加入 Extraction Buffe 体积，1 mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；5：血清等液体样本稀释倍数。

结果展示

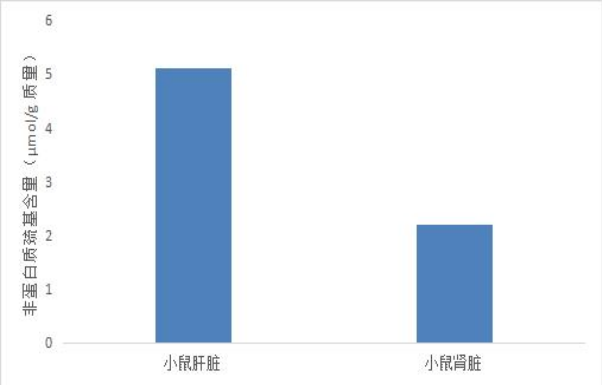


Figure 1. 本试剂盒测定小鼠肝脏和小鼠肾脏中非蛋白质巯基的含量

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTB1500	CheKine™ 总抗氧化能力（TAC）检测试剂盒（微量法）
KTB1510	CheKine™ 尿酸（UA）含量检测试剂盒（微量法）
KTB1550	CheKine™ 铜蓝蛋白（Cp）活性检测试剂盒（微量法）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.