

巯基测定试剂盒说明书 (分型) (精简版)

(货号: A063-3-1 分光光度法 100 管/24 样)

免责声明: 测试前请仔细阅读说明书, 预试后再进行批量实验, 否则由此导致的后果用户自行承担!

一、试剂组成与配制: (试剂盒有效期 6 个月)

试剂一: 液体 12mL×1 支, 4℃ 保存;

试剂二: 液体 60mL×2 瓶, 4℃ 保存;

试剂三: 粉剂×1 支, 用时加蒸馏水 50mL 溶解, 4℃ 避光保存;

试剂四: 粉剂×3 支, 用时每支加蒸馏水 10mL 溶解, 4℃ 避光冷藏可保存 5 天;

试剂五: 液体 40mL×1 瓶, 4℃ 保存。

二、所需仪器耗材及试剂:

含 412nm 波长的分光光度计及 0.5cm 光径比色皿、37℃ 水浴锅或恒温箱、台式低速离心机、各种规格移液器、蒸馏水、生理盐水 (0.9%) 或 PBS (0.1M)、涡旋混匀器、试管或离心管、蛋白测定试剂 (组织及细胞样本用, 本公司有售)。

三、操作步骤:

1、血清 (浆) 样本前处理: 取 0.1mL 血清 (浆) 加 0.3mL 试剂五混匀, 3500 转/分, 离心 10 分钟, 取上清进行显色反应。

2、组织样本前处理: 准确称取组织重量, 按质量体积比加 9 倍生理盐水制成 10% 的组织匀浆, 3500 转/分离心 10 分钟, 取 10% 组织匀浆上清 0.1mL 加 0.3mL 试剂五混匀, 3500 转/分, 离心 10 分钟, 取上清进行显色反应。

3、操作步骤:

	空白管 (A0)	总-SH 测定管 (A1)	总-SH 对照管 (A2)	非蛋白-SH 测定管 (A3)	非蛋白-SH 对照管 (A4)
样本 (mL)		0.1	0.1		
上清液 (mL)				0.1	0.1
试剂一 (mL)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
摇动试管架几下, 使试剂混匀。					
试剂二 (mL)	1.1	1.0	1.0	1.0	1.0
试剂三 (mL)	0.5	0.5		0.5	
蒸馏水 (mL)			0.5		0.5
混匀, 37℃ 水浴 15 分钟。					
试剂四 (mL)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
混匀, 室温静置 10 分钟, 波长 412nm, 0.5cm 光径, 双蒸水调零, 测定各管吸光度值 A。					

注意点: 1、空白管只需做 1~2 只;

2、对照管必须每个样本都做。

四、血清 (浆) 的计算:

1、计算公式:

$$\text{总巯基含量} (\mu\text{mol/L}) = \frac{A1 - A0 - A2}{13.6 \times 10^{-3} \times d} \times \frac{V_{\text{反总}}}{V_{\text{样}}} \times N$$

$$\text{非蛋白巯基含量} (\mu\text{mol/L}) = \frac{A3 - A0 - A4}{13.6 \times 10^{-3} \times d} \times \frac{V_{\text{反总}}}{V_{\text{样}}} \times N$$

$$\text{蛋白巯基含量} (\mu\text{mol/L}) = \text{总巯基含量} - \text{非蛋白巯基含量}$$

注: 13.6×10^{-3} 为微摩尔消光系数, $L/(\mu\text{mol} \times \text{cm})$;

d: 比色光径, 0.5cm;

$V_{\text{反总}}$: 反应液总体积, 1.75mL;

$V_{\text{样}}$: 取样量, 0.1mL;

N: 样本测试前稀释倍数 (非蛋白巯基还需算上前处理时的稀释倍数 4)。

1、计算公式:

$$\text{总巯基含量} (\mu\text{mol/gprot}) = \frac{A1 - A0 - A2}{13.6 \times 10^{-3} \times d} \times \frac{V_{\text{反总}}}{V_{\text{样}}} \div \text{Cpr}$$

$$\text{非蛋白巯基含量} (\mu\text{mol/gprot}) = \frac{A3 - A0 - A4}{13.6 \times 10^{-3} \times d} \times \frac{V_{\text{反总}}}{V_{\text{样}}} \times N \div \text{Cpr}$$

$$\text{蛋白巯基含量} (\mu\text{mol/gprot}) = \text{总巯基含量} - \text{非蛋白巯基含量}$$

注: 13.6×10^{-3} 为微摩尔消光系数, $L/(\mu\text{mol} \times \text{cm})$;

d: 比色光径, 0.5cm;

$V_{\text{反总}}$: 反应液总体积, 1.75mL;

$V_{\text{样}}$: 取样量, 0.1mL;

N: 非蛋白巯基前处理时的稀释倍数, 4;

Cpr: 组织匀浆蛋白浓度, gprot/L (prot 指蛋白)。

五、组织的计算: