

## 总巯基测定试剂盒说明书

### 微量法 100T/48S

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

#### 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。

#### 组成：

产品名称	100T/48S	Storage
试剂一：液体	18ml	4°C
试剂二：液体	1ml	4°C避光
说明书	一份	

#### 自备仪器和用品：

天平、研钵、恒温水浴锅、酶标仪、96 孔板、乙醇和蒸馏水。

#### 样品的制备：

- 按照组织质量 (g) : 水体积(ml)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织，加入 1ml 蒸馏水) 进行冰浴匀浆，然后 8000g, 4°C离心 10min，取上清，置冰上待测。
- 血清，培养液：稀释 5 倍后测定，可取 0.1ml 样本，加入 0.4ml 蒸馏水，混匀，置冰上待测。

#### 测定操作表：

1、酶标仪预热 30min，调节波长至 412nm。

2、操作表

在 96 孔板中加入如下试剂

	对照管	测定管
样品 (μl)	40	40
试剂一 (μl)	150	150

试剂二 (μl)		10
乙醇 (μl)	10	
混匀, 25°C静置 10min, 测定 412nm 吸光值。ΔA=A 测定-A 对照。每个测定管设一个对照管。		

## 计算公式:

总巯基标准曲线:  $y = 1.8111x - 0.0037$ ,  $R^2 = 1$ ,  $x$  为标品浓度, 单位  $\mu\text{mol/ml}$ ,  $y$  为吸光度  $\Delta A$ 。

### 1. 组织:

#### (1) 按样本重量计算

$$\begin{aligned}\text{总巯基含量 } (\mu\text{mol/g 鲜重}) &= (\Delta A + 0.0037) \div 1.8111 \times V \text{ 样总} \div W \\ &= 0.552 \times (\Delta A + 0.0037) \div W\end{aligned}$$

#### (2) 按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned}\text{总巯基含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) &= (\Delta A + 0.0037) \div 1.8111 \times V \text{ 样总} \div C_{\text{pr}} \\ &= 0.552 \times (\Delta A + 0.0037) \div C_{\text{pr}}\end{aligned}$$

### 2. 血清、培养液:

$$\begin{aligned}\text{总巯基含量 } (\mu\text{mol/L}) &= (\Delta A + 0.0037) \div 1.8111 \times 5 \times 10^3 \\ &= 2761 \times (\Delta A + 0.0037)\end{aligned}$$

$V$  样总: 加入提取液体积, 1ml;  $W$ : 样品质量, g;  $C_{\text{pr}}$ : 样本蛋白浓度, mg/ml; 5: 血清, 培养液等液体样本稀释倍数;  $10^3$ :  $1\text{mmol/L} = 10^3\mu\text{mol/L}$

## 注意事项:

最低检出限为  $10\mu\text{mol/L}$ 。