

总巯基含量检测试剂盒说明书

微量法

货号: BC1375

规格: 100T/48S

产品组成: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 20 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存
标准品	粉剂×1 支	2-8℃保存

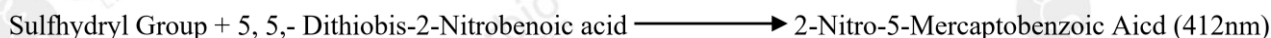
溶液的配制:

标准品: 10 mg 还原型谷胱甘肽 (GSH)。临用前加入 1.3 mL 蒸馏水, 配制成 25 μmol/mL, 2-8℃保存两周。

产品说明:

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。

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。



技术指标:

最低检出限: 0.0088 μmol/mL

线性范围: 0.015625-1 μmol/mL

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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、天平、台式离心机、恒温水浴锅、研钵/匀浆器和蒸馏水。

操作步骤:

一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

1. 动物、植物组织: 按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (称取称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 的提取液), 冰浴匀浆, 8000g, 常温离心 10min, 取上清待测。
2. 血清, 培养液: 直接测定。若溶液有浑浊则离心后取上清进行测定。

二、测定步骤

- 1、分光光度计或酶标仪预热30min以上, 调节波长至412nm, 分光光度计蒸馏水调零。
- 2、标准液的稀释: 将25μmol/mL标准溶液用蒸馏水稀释至0.5、0.25、0.125、0.0625、0.03125、0.015625μmol/mL的标准液, 现用现配。
- 3、标准液稀释可参考下表:





序号	稀释前浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)	标准液体积 (μL)	蒸馏水体积 (μL)	稀释后浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)
1	25	20	980	0.5
2	0.5	200	200	0.25
3	0.25	200	200	0.125
4	0.125	200	200	0.0625
5	0.0625	200	200	0.03125
6	0.03125	200	200	0.015625

备注：下述实验中每个标准管需 40 μL 标准溶液（注意不要在此步骤直接检测标准溶液吸光度）。

4、操作表

试剂名称	对照管	测定管	标准管	空白管
样本 (μL)	40	40	-	-
标准品 (μL)	-	-	40	-
试剂一 (μL)	150	150	150	150
试剂二 (μL)	-	10	10	-
H_2O (μL)	10	-	-	50

混匀，室温准确静置10min，测定412nm吸光值，分别记为A对照、A测定、A标准、A空白，并计算 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 、 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。每个测定管需设一个对照管。标准曲线和空白管只需测1-2次。

三、计算公式

1、标准曲线的绘制：根据标准管的浓度（x， $\mu\text{mol/mL}$ ）和吸光度 $\Delta A_{\text{标准}}$ （y， $\Delta A_{\text{标准}}$ ），建立标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ （y， $\Delta A_{\text{测定}}$ ）带入公式计算样本浓度（x， $\mu\text{mol/mL}$ ）。

2、总巯基含量计算：

（1）按样本质量计算：总巯基含量（ $\mu\text{mol/g}$ 质量）= $x \times V_{\text{样总}} \div W = x \div W$

（2）按样本蛋白浓度计算：总巯基含量（ $\mu\text{mol/mg prot}$ ）= $x \times V_{\text{样总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样总}}) = x \div C_{\text{pr}}$

（3）按血清、培养液体积计算：总巯基含量（ $\mu\text{mol/L}$ ）= $x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times 10^{-3}) = 1000x$

$V_{\text{样总}}$ ：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； C_{pr} ：样本蛋白浓度，mg/mL； 10^{-3} ：单位换算系数，1mL= 10^{-3} L。

注意事项：

如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。注意同步修改计算公式。

相关发表文献：

[1] Chi X, Li X, Hou X, Guo S, Hu X. Facile Bioself-Assembled Crystals in Plants Promote Photosynthesis and Salt Stress Resistance. ACS Nano. 2021 Mar 23;15(3):5165-5177. doi: 10.1021/acsnano.0c10351. Epub 2021 Feb 23. PMID: 33620211.

[2] Zhang T, Wang J, Feng J, Liu Y, Suo R, Ma Q, Sun J. Effects of ultrasonic-microwave combination treatment on the physicochemical, structure and gel properties of myofibrillar protein in Penaeus vannamei (Litopenaeus vannamei) surimi. Ultrason Sonochem. 2022 Nov;90:106218. doi: 10.1016/j.ultsonch.2022.106218. Epub 2022 Nov 4. PMID: 36356497; PMCID: PMC9650070.

[3] Zhang T, Wang J, Feng J, Liu Y, Suo R, Jin J, Wang W. Ultrasonic pretreatment improves the gelation properties





of low-salt *Penaeus vannamei* (*Litopenaeus vannamei*) surimi. *Ultrason Sonochem.* 2022 May;86:106031. doi: 10.1016/j.ultsonch.2022.106031. Epub 2022 May 10. PMID: 35569439; PMCID: PMC9118890.

[4] Yu F, Lin L, Sun J, Pan J, Liao Y, Pan Y, Bai G, Ma L, Mao J, Hu L. Cysteine Pathogenic Variants of PMM2 Are Sensitive to Environmental Stress with Loss of Structural Stability. *Oxid Med Cell Longev.* 2023 Jan 25;2023:5964723. doi: 10.1155/2023/5964723. PMID: 36743691; PMCID: PMC9891822.

[5] Xu J, Sun Q, Dong X, Gao J, Wang Z, Liu S. Insight into the microorganisms, quality, and protein structure of golden pompano (*Trachinotus ovatus*) treated with cold plasma at different voltages. *Food Chem X.* 2023 May 5;18:100695. doi: 10.1016/j.fochx.2023.100695. PMID: 37234402; PMCID: PMC10206424.

相关系列产品:

- BC1300/BC1305 铜蓝蛋白 (Cp) 活性检测试剂盒
- BC1310/BC1315 总抗氧化能力 (T-AOC) 检测试剂盒
- BC1360/BC1365 尿酸 (UA) 含量检测试剂盒

