



总巯基含量检测试剂盒

Total Sulfhydryl Group Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



总巯基含量检测试剂盒

Total Sulphydryl Group Content Assay Kit

一、产品描述

生物体内巯基主要包括谷胱甘肽巯基和蛋白质巯基，谷胱甘肽巯基是细胞内最主要的抗氧化巯基物质，在抗氧化、蛋白质氧化损伤修复和氨基酸跨膜运输等方面起着重要作用，蛋白质巯基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。

巯基基团能够与 5,5'-二硫代-双-(2-硝基苯甲酸) (5,5'-Dithiobis-2-Nitrobenzoic Acid, DTNB) 反应生成黄色的 2-硝基-5-巯基苯甲酸，产物在 412 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测总巯基的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 80 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 100 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 4 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
标准品	粉剂×1 支 (10 mg GSH 标准品)	4°C 保存	使用前加入 1.3 mL 蒸馏水充分溶解 (即为 25 μmol/mL GSH 标准液)
标准稀释液的制备 (现用现配): 使用前将 25 μmol/mL GSH 标准液使用蒸馏水稀释至 0.4、0.3、0.2、0.1、0.05、0.025 μmol/mL 即为标准稀释液。			

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (μmol/mL)	25	1.0	1.0	1.0	0.2	0.1	0.05
标准液体积 (μL)	40	400	300	200	500	500	500
蒸馏水体积 (μL)	960	600	700	800	500	500	500
稀释后浓度 (μmol/mL)	1.0	0.4	0.3	0.2	0.1	0.05	0.025

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿 (光径 10 mm、狭缝 3 mm、体积 1.05 mL)、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机和蒸馏水。

1.待测样本的制备（可根据预实验结果适当调整样品量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

②血清、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 412 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
待测样本	200	200	-	-
标准稀释液	-	-	200	-
试剂一	750	750	750	750
试剂二	50	-	50	-
蒸馏水	-	50	-	250
充分混匀，室温显色 10 min				

吸光值测定：将反应液置于 1 mL 玻璃比色皿中，测定 412 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：每个样本均需设一个对照管，各浓度标准管和空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 0.4、0.3、0.2、0.1、0.05、0.025 μmol/mL 为横坐标 (x)，对应的 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式中得到 x (μmol/mL)。

3.总巯基含量计算

①按组织样本质量计算

$$\text{总巯基含量 } (\mu\text{mol/g}) = \frac{x \times V_{\text{提}} \times D}{W} = \frac{x \times D}{W}$$

②按组织蛋白浓度计算

$$\text{总巯基含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = \frac{x \times V_{\text{提}} \times D}{C_{\text{pr}} \times V_{\text{提}}} = \frac{x \times D}{C_{\text{pr}}}$$

③按液体样本体积计算

$$\text{总巯基含量 } (\mu\text{mol/mL}) = \frac{x \times V_{\text{样}} \times D}{V_{\text{样}}} = x \times D$$

注释：V 提：待测样本总体积，1 mL；V 样：反应体系中加入待测样本的体积，0.2 mL；W：样本质量，g；Cpr：待测样本蛋白浓度，mg/mL；D：待测样本稀释倍数，若未稀释则为 1。

四、注意事项

- ①若测定吸光值超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将待测样本使用**提取液**适当稀释后再进行测定；低于最低值建议制备更高浓度的样本后再进行测定，计算时相应修改；
- ②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

