

(本试剂盒仅供体外研究使用,不用于临床诊断!)

总巯基测定试剂盒 Total Sulfhydryl Group/Total Thiol (-SH) Assay Kit

产品货号: BC00022

产品规格: 100T

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题,请通过以下方式联系我们:

□ □ 邮箱 (销售) order@enkilife.cn □ 邮箱 (技术支持) tech@enkilife.cn

念公司电话 027-87002838

订阅微信公众号 获取更多技术 信息及前沿动态

保质期:请见试剂盒外包装标签。

技术支持: 为了更好地给您提供服务, 联系时请告知产品外包装标签上批号。

基本信息

产品中文名称	总巯基测定试剂盒		
产品英文名称	Total Sulfhydryl Group/Total Thiol (-SH) Assay Kit		
检测方法	Colorimetric		
样品类型	血清、血浆、组织		
检测类型	Quantitative		
检测仪器及波长	酶标仪(410-420 nm,最佳检测波长 412 nm)		
检测范围	0.078125-1.25mM		
灵敏度	0.0059mM		

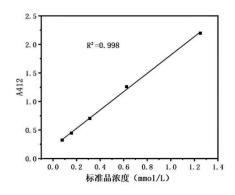
产品简介

活性巯基(SH)主要存在于半胱氨酸,是蛋白质结构和生物体内某些氧化还原反应重要基团。在蛋白质结构中2个巯基脱氢而形成的双硫键,使相邻多肽得以连接.对于维持蛋白质完整结构十分重要。所有动物组织都含有不同量的活性巯基,机体内起重要作用的谷胱甘肽,其生理作用主要是靠所含半胱氨酸中活性巯基起还原作用。巯基还是很多酶活性基团,一些重金属盐如 Hg2+等与酶巯基结合,影响酶活性。巯基化合物与机体许多机能活动,药物及毒物的作用以及某些疾病的发生发展有着密切关系。测定组织和血液中巯基含量已日益为人们所重视,以期探索对某些疾病的发生机理、治疗、预防以及预后判断等方面的研究意义。

检测原理

巯基化合物与 5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)反应,在中性或碱性条件下,生成黄色产物,并且在 412 nm 处有最大吸收峰。

下图展示了本试剂盒测定总巯基的标准曲线。以下标准曲线仅供参考:



产品组分

编号	产品名称	包装规格 (100T)	保存方式
试剂一	缓冲液	20mL	-20℃,开瓶使用后 2-8℃保存
试剂二	显色剂	1.3 mL	-20℃,开瓶使用后 2-8℃保存
试剂三	总巯基标准品	粉剂	-20℃,开瓶使用后 2-8℃保存
试剂四	溶解剂	20ml	-20℃,开瓶使用后 2-8℃保存
耗材一	96 孔酶标板	1 板	RT
耗材二	96 孔覆膜	2 张	RT

保存条件

未拆封的试剂盒可在 -20℃保存 12 个月。 开瓶使用后可 2-8℃ 保存, 6 个月有效。

实验前准备

• 样品处理

1. 血清血浆样本:可直接测定。

2. 样本的稀释:在正式检测前,需选择 2-3 个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验。

3. 组织样本: 取 0.020-1.0 g 新鲜组织块,按照重量 (g) : 体积 (mL) =1:9 的比例加入

生理盐水 (0.9% NaCl) , 进行匀浆, 4°C, 10000×g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测注: 稀释液为生理盐水 (0.9% NaCl) 或 PBS (0.01 M, pH 7.4) 。

• 试剂盒的准备工作

- 1. 检测前, 试剂盒中的试剂平衡至室温。
- 2. 10mmol/L 标准品的配制: 按试剂三: 试剂四=0.1536g: 50ml 的比例混合,混匀后充分静置 10 min 即成工作液。2-8℃可保存 7 天。
- 3. 不同浓度标准品的稀释: 将上步配制好的 10mmol/L 标准品充分混匀后用双蒸水稀释成不同浓度如 1.0、0.8, 0.6, 0.4, 0.2, 0 (空白孔) mmol/L。

操作流程

- 1. 标准孔: 取 40 μL 不同浓度的标准液,加入到对应的标准孔中。测定孔: 取 40 μL 样本,加入到对应的测定孔中。
- 2. 向步骤"1"标准孔、测定孔加入140µL缓冲液,加入20µL显色液。
- 3. 酶标仪 412nm 处,测定各孔 OD 值。

	标准孔	测定孔		
不同浓度的标准品溶液(µL)	40			
待测样本(μL)		40		
缓冲液(µL)	140	140		
显色液(µL)	20	20		
酶标仪 412nm 处,测定各孔 OD 值。				

结果计算

标准品拟合曲线: y = ax + b

正常血清(浆)样本,总巯基浓度计算公式:总巯基含量(mmol/L) = (Δ A412 - b) ÷ a × f 组织样本中总巯基(-SH)含量计算公式:

总巯基含量(μ mol/g 组织湿重) = (Δ A412 - b) ÷ a ÷ m/V × f

注解:

y: 标准孔 OD 值-空白孔 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 吸光度对应的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

ΔA412: 样本 OD 值-空白 OD 值(标准浓度为 0 时的 OD 值)

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

m: 组织的湿重, 建议 m 取 0.1 g

V:组织处理过程中加入匀浆介质的体积,建议 V 取 0.9 mL

注意事项

- 1. 酶标仪最佳检测波长为 412 nm, 410nm-420 nm 范围内检测均可。
- 2. 本产品仅限于专业人员的科学研究用,不得用于临床诊断或治疗,不得用于食品或药品,不得存放于普通住宅内。