

## 巯基检测试剂盒

产品货号：26929

产品规格：100T

### 产品简介：

巯基检测试剂盒是利用经典的Ellman法进行总巯基检测的试剂盒。试剂盒准确性高，重复性和抗干扰性强，使用方便，可用于测各种动物的血清/血浆、组织、细胞、培养液以及植物组织样本等。

Ellman试剂是一种通用的水溶性化合物，用于定量溶液中的游离巯基。该化合物的溶液在与巯基反应时会产生可测量的黄色产物。因此，Ellman试剂非常适合用作巯基测定试剂，因为它在反应缓冲液中对-SH基团具有特异性，摩尔消光系数高且反应时间短。

本试剂盒用于各种样品中的游离巯基，如果需要还原所有二硫键，测定总半胱氨酸巯基，生物体内活性巯基（SH）主要包括谷胱甘肽巯基和蛋白质巯基。谷胱甘肽巯基能够修复氧化损伤的蛋白质，参与活性氧清除。蛋白质巯基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，在蛋白质结构中两个巯基脱氢而形成的二硫键，使相邻多肽得以连接。对于维持蛋白质完整结构作用十分重要。

巯基还是很多酶的活性基团，一些重金属盐如 $Hg^{2+}$ 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。

所有动物组织都含有不同量的活性巯基，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。

可以提供细胞凋亡、增殖、毒性、活性氧、细胞代谢、氧化应激、细胞膜流动性、膜通透性转换孔、细胞耗氧率、细胞内pH、细胞粘附、细胞自噬等数百种检测试剂盒产品。

可以为您提供各种颜色的M系列、N系列、L系列、E系列、G系列等细胞膜、细胞质、细胞核、溶酶体、线粒体、内质网、高尔基体、骨架、微管等细胞、细胞亚结构荧光染色试剂盒产品，以及钙离子、钠离子、氯离子等各种荧光染色试剂盒产品。

可以提供动物、植物、微生物、酵母、水产、家禽、兽类、土壤等样本的各种生化指标检测的数百种试剂盒产品。

### 适用样本：

血清、血浆、尿液、细胞培养上清、细胞裂解液、组织裂解液

### 仪器准备：

分光光度计、恒温水浴锅、涡旋混匀器、移液器、冰箱、冰盒

### 试剂准备：

生理盐水、纯水、耗材准备、比色皿、试管、吸头、一次性手套

### 使用注意事项：

1. 试剂 B2 干粉开盖使用前先敲入瓶底部，防止开盖时洒落导致损失。
2. 测定复杂蛋白质样品时，如果需要将内部巯基完全暴露，可以用盐酸胍变性剂处理需要测定的蛋白质样品，有助于将内部巯基完全暴露。不推荐将尿素用作变性剂，因为它会形成与巯基发生反应的脎酸盐。
3. 如果需要还原待测蛋白质样品的二硫键，测定所有的二硫键巯基，可以使用DTT或 $\beta$ -巯基乙醇（BME, 2-ME）还原剂处理待测蛋白样品，但是注意一定要完全去除还原剂 DTT 和 $\beta$ -巯基乙醇，因为它们会引入巯基。可以采用透析或脱盐的方法去除还原剂 DTT 和 $\beta$ -巯基乙醇。

注意避免还原分子的样品损失，尽可能完全回收还原蛋白质/肽。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

在还原过程中，向样品缓冲液中加入 5-20mM EDTA 有助于防止二价金属（如  $Zn^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$  和  $Mg^{2+}$ ）对巯基进行再氧化。

4. 还原样品应在还原后立即进行测定，因为二硫化物会随时间重新形成。

#### 使用方法：

1. 试剂配制：

使用前，准确吸取 10ml 试剂 B1 加入试剂 B2 干粉，充分溶解混匀，即成 ELLMAN 试剂 B 工作液，4℃避光保存。

2. 样本处理

血清/培养液等液体样本：直接检测或稀释后检测。

蛋白质粉末：用水溶解后检测。

动物、植物细胞组织：按照组织质量（g）：生理盐水或 PBS 体积（mL）为 1：5-10 的比例（建议称取约 100mg 组织，加入 1mL 生理盐水或 PBS 等缓冲液）进行冰浴匀浆，然后  $8000\times g$ ，4℃离心 15min，取上清，置冰上待测。

3. 总巯基的测定

按下表在试管中加入试剂。

同时做空白管（无样品液）、样品对照管（无 ELLMAN 试剂）。

充分混匀，置室温静置 15 分钟。

在 412nm，0.5cm 光径，以反应缓冲液试剂 A 调零。

测定各管 OD 值：A 测定、A 空白、A 对照。

#### 【注】：

如果 OD 值太大，可以将样品用试剂 A 稀释后再检测。

空白管做一个即可。

对照管最好每个样品均做，如果样品本身的背景值较低，也可以只做一个。

4. 计算

血清中总巯基含量（mmol/L）

$$= (A \text{ 测定} - A \text{ 空白} - A \text{ 对照}) \div 14.15 \div 0.5 \times 10$$

#### 【注】：

以上以 0.5cm 光径检测设备为例，如果实际使用的检测设备是采用 1cm 光径，将计算公式中的 0.5 换成 1 即可。

如果样品进行了稀释，计算时注意乘上相应的稀释倍数。

组织细胞中总巯基含量（mmol/g）

$$= (A \text{ 测定} - A \text{ 空白} - A \text{ 对照}) \div 14.15 \div 0.5 \times 10 \div \text{蛋白含量 (g/L)}$$

#### 【注】：

以上以 0.5cm 光径检测设备为例，如果实际使用的检测设备是采用 1cm 光径，将计算公式中的 0.5 换成 1 即可。

#### 【注】：

14.15 为毫摩尔消光系数  $14.15/\text{mM} \cdot \text{cm}$ ； $14.15\text{mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

0.5 为光径 0.5cm；

10 为反应总体积/样品取样量

#### 有效期：

2-8℃，避光6个月有效。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com