

蛋白质羰基含量检测试剂盒（微量法）

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1074

产品规格：100管/48样

产品简介：

蛋白质羰基是多种氨基酸在蛋白质的氧化修饰过程中的早期标志，其含量高低表明蛋白质氧化损伤程度的大小，是衡量蛋白质氧化损伤的主要指标。

羰基与2,4-二硝基苯肼反应生成红色2,4-二硝基苯腙，在370nm处有特征吸收峰。

产品内容：

提取液：液体60mL×1瓶，4°C保存。

试剂一：粉剂0.1g×5支，4°C保存。（使用前根据样品数，每支加1mL水震荡溶解后离心取上清使用，每支为10个样品用量）

试剂二：液体8mL×1瓶，4°C避光保存。

试剂三：液体8mL×1瓶，4°C保存。

试剂四：液体18mL×1瓶，4°C保存。

试剂五：液体 90mL×1 瓶（自备）

（自备乙酸乙酯和无水乙醇，根据测定样本量，将乙酸乙酯和无水乙醇等体积混合。）

试剂六：液体25mL×1瓶，4°C保存。

需自备的仪器和用品：

天平、恒温水浴锅/培养箱、低温离心机、超声细胞破碎仪、漩涡震荡仪、紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔UV板、研钵/匀浆器、蒸馏水、无水乙醇、乙酸乙酯。

操作步骤：

一、样品处理

组织样品：称取约0.1g组织样品，加入1mL提取液，充分匀浆后于4°C，5000rpm离心10min，取上清（若用蛋白浓度计算最终结果，需要在此步取出20μL上清液，加入2μL蒸馏水后用于测定蛋白含量，剩余的进行后续步骤），加入0.1mL试剂一，室温放置10min，4°C，12000rpm离心10min，取上清待测。

细菌或细胞样本：收集细胞至离心管内，建议收集500~1000万细胞，加入1mL提取液，冰浴超声破碎（功率200W，超声开3s，间隔9s，总时长3min），于4°C，5000rpm离心10min，取上清（若用蛋白浓度计算最终结果，需要在此步取出20μL上清液，加入2μL蒸馏水后用于测定蛋白含量，剩余的进行后续步骤），加入0.1mL试剂一，室温放置10min，4°C，12000rpm离心10min，取上清待测。

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370nm，试剂六调零。

2、操作表



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

试剂名称 (μL)	对照管	测定管
样本	160	160
试剂二		120
试剂三	120	
混匀, 37°C避光反应1h, 每10min振荡一次		
试剂四	150	150
静置5min, 4°C, 12000rpm离心15min, 弃上清, 留沉淀		
试剂五	300	300
漩涡混匀, 4°C, 12000rpm离心10min, 弃上清, 留沉淀。重复3次		
实际六	200	200
漩涡混匀, 37°C温育15min, 沉淀全部溶解后, 4°C, 12000rpm离心15min, 取上清200μL, 微量石英比色皿/96孔板, 试剂六调零, 测定A ₃₇₀ 。		

三、计算公式

a) 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1、按蛋白浓度计算:

$$\begin{aligned} \text{蛋白质羰基含量} (\mu\text{mol}/\text{mg prot}) &= (A_{370\text{测定管}} - A_{370\text{对照管}}) \div (\epsilon \times d) \times V \div (Cpr \times V_{\text{样本}}) \\ &= (A_{370\text{测定管}} - A_{370\text{对照管}}) \div 17.6 \div Cpr \end{aligned}$$

2、按样本鲜重计算:

$$\begin{aligned} \text{蛋白质羰基含量} (\mu\text{mol}/\text{g 鲜重}) &= (A_{370\text{测定管}} - A_{370\text{对照管}}) \div (\epsilon \times d) \times V \div (W \times V_{\text{样品}} \div V_{\text{提取}}) \\ &= (A_{370\text{测定管}} - A_{370\text{对照管}}) \div 16 \div W \end{aligned}$$

3、按细菌或细胞数量计算:

$$\begin{aligned} \text{蛋白质羰基含量} (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) &= (A_{370\text{测定管}} - A_{370\text{对照管}}) \div (\epsilon \times d) \times V \div (500 \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}}) \\ &= (A_{370\text{测定管}} - A_{370\text{对照管}}) \div 8000 \end{aligned}$$

4、按液体体积计算:

$$\text{蛋白质羰基含量} (\mu\text{mol}/\text{mL}) = (A_{370\text{测定管}} - A_{370\text{对照管}}) \div (\epsilon \times d) \times V \div V_{\text{样本}} = (A_{370\text{测定管}} - A_{370\text{对照管}}) \div 17.6$$

ε: 蛋白质羰基消光系数, 22 mL/μmol/cm; d: 比色皿光径, 1cm; V: 加入试剂六体积, 0.2mL; V样品: 加入样本体积, 0.16 mL; V提取: 加入提取液及试剂一体积, 1.1mL; 500: 细菌或细胞总数, 500万; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样品质量, g。

b) 用96孔UV板测定的计算公式如下:

将比色皿光径d=1cm换成d=0.6cm即可。

注意事项:

- 1、试剂一使用之前根据要测定的样品数现配, 配置好后4°C保存, 若变为黑色, 则不能使用。
- 2、试剂二见光易分解, 反应需严格避光。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com