

蛋白质羰基含量检测试剂盒（紫外分光光度法）

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。

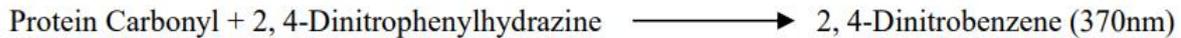
产品货号：BA1073

产品规格：50管/24样

产品简介：

蛋白质羰基化是指氨基酸残基侧链中的氨基或亚氨基受到氧自由基攻击最后转变成醛基，并释放 NH_3^+ 的过程。其在体内的形成主要是通过金属离子催化氧化系统完成。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×3支，4°C保存。（使用前根据样本数，每支加2mL水震荡溶解后离心取上清使用，每支为10个样本用量，溶液变黑后即不可再继续使用；）

试剂二：液体18mL×1瓶，4°C避光保存。

试剂三：液体18mL×1瓶，4°C保存。

试剂四：液体40mL×1瓶，4°C保存。

试剂五：液体 230mL×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。（提供1个125mL空瓶）

试剂六：液体60mL×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、1mL石英比色皿、研钵/匀浆器、蒸馏水、无水乙醇和乙酸乙酯。

操作步骤：

一、样本处理

组织样本：称取约0.2g组织样本，加入2mL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0.2mL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1000~2000万细胞，加入2mL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0.2mL试剂一，室温放置10min，4°C，12000rpm离心10min，取上清待测。

血清（浆）等液体样本：直接测定

二、测定步骤



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

1、分光光度计预热30min以上，调节波长至370nm，试剂六调零。

2、操作表

试剂名称 (mL)	对照管	测定管
样本	0.8	0.8
试剂二		0.6
试剂三	0.6	
混匀，37°C避光反应1h，每10min振荡一次		
试剂四	0.75	0.75
静置5min，4°C，12000rpm离心15min，弃上清，留沉淀		
试剂五	1.5	1.5
漩涡混匀，4°C，12000rpm离心10min，弃上清，留沉淀。重复3次		
试剂六	1.0	1.0
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1mL于石英比色皿，试剂六调零，测定A ₃₇₀ 。		

三、计算公式

1、按蛋白浓度计算：

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

2、按样本鲜重计算：

$$\begin{aligned} \text{蛋白质羰基含量} (\mu\text{mol}/\text{g 鲜重}) &= (A_{370\text{测定管}} - A_{370\text{对照管}}) \div (\epsilon \times d) \times V \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}}) \\ &= (A_{370\text{测定管}} - A_{370\text{对照管}}) \div 8 \div W \end{aligned}$$

3、按细菌或细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{蛋白质羰基含量} (\mu\text{mol}/10^4\text{cell}) &= (A_{370\text{测定管}} - A_{370\text{对照管}}) \div (\epsilon \times d) \times V \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}}) \\ &= (A_{370\text{测定管}} - A_{370\text{对照管}}) \div 8 \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

4、按液体体积计算：

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

ϵ : 蛋白质羰基消光系数, 22mL/ $\mu\text{mol}/\text{cm}$; d : 比色皿光径, 1cm; V : 加入试剂六体积, 1mL; $V_{\text{样本}}$: 加入样本体积, 0.8mL; $V_{\text{提取}}$: 加入提取液及试剂一体积, 2.2mL; 细胞数量: 以万计; Cpr : 样本蛋白质浓度, mg/mL; W : 样本质量, g。

注意事项:

1、试剂一使用之前根据要测定的样本数现配，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