

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。（提供1个60mL空瓶）

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		
试剂六	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:

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

2、按样本鲜重计算:

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

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:

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

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