总巯基含量检测试剂盒说明书

规格：96 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。

2. 正式检测前选取 2~3 个样本进行预检测。

3. 本试剂盒仅用于科研。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
试剂一	36 mL×1	4℃	
试剂二	2 mL×1	4℃避光	
试剂三	2 mL×1	4℃	

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

四、样品制备

1. 组织：按照组织质量（g）：蒸馏水/超纯水体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1 g 组织，加入 1 mL 超纯水/蒸馏水）进行冰浴匀浆，然后，10000 g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

3. 液体样本：稀释 5 倍后测定，可取 0.1 mL 样本，加入 0.4 mL 蒸馏水，混匀，置冰上待测。

五、测定步骤

1.酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 412 nm 处。

2.在 96 孔板中依次加入：

	测定管	对照管
样本（μL）	40	40
试剂一（μL）	150	150
试剂二（μL）	10	-
试剂三（μL）	-	10

混匀，室温静置 10 min，测定 412 nm 吸光值。记 A 测定、A 对照，ΔA=A 测定-A 对照。每个测定管设一个对照管。

六、计算

标准方程

标准条件下测得回归方程为 y=1.8111x-0.0037，R^2=1，x 为标准品浓度（μmol/mL），y 为吸光值ΔA。

1. 按照样本质量计算：

总巯基含量（μmol/g 鲜重）=（ΔA+0.0037）÷1.8111×V 样总÷W=0.552×（ΔA+0.0037）÷W

2. 按照蛋白质浓度计算（需另测蛋白浓度）：

总巯基含量（μmol/mg prot）=（ΔA+0.0037）÷1.8111×V 样总÷Cpr

=0.552×（ΔA+0.0037）÷Cpr

3. 按照液体样本体积计算：

总巯基含量（μmol/L）=（ΔA+0.0037）÷1.8111×5×10^3 =2761×（ΔA+0.0037）

V 样总：加入提取液体积，1 mL；W：样品质量，g ；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；5：液体样本稀释倍数；10^3 ：1 mmol/ L=10^3 μmol/ L

七、产品简介

总巯基广泛存在于动植物及微生物蛋白质、多肽中，可通过二硫键的形成与断裂维持蛋白空间结构稳定，同时能够清除细胞内活性氧，发挥抗氧化防护作用；巯基还可作为酶活性中心关键基团调控酶催化功能，参与细胞物质代谢、信号传导与重金属解毒过程。