

蛋白质羰基含量检测试剂盒 (分光光度计法) (本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0265	蛋白质羰基含量检测试剂盒	50 管/24 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 25mL ×1 瓶	4°C
试剂一	粉剂 0.1g×3 支 (使用前根据样品数, 每支加 1mL 水溶解, 每支为 10 个样品用量)。	4°C
试剂二	液体 10mL ×1 瓶	4°C, 避光
试剂三	液体 10mL ×1 瓶	4°C
试剂四	液体 25mL ×1 瓶	4°C
试剂五	根据样品量, 将乙酸乙酯和无水乙醇等体积混合。(自备)	
试剂六	液体 5mL ×1 瓶	4°C

一、产品说明

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。

二、自备材料

天平、恒温水浴锅、低温离心机、漩涡震荡仪、紫外分光光度计、1 mL 石英比色皿、蒸馏水、无水乙醇和乙酸乙酯。

三、样本准备:

称取约 0.1g 组织样品, 加入 1mL 提取液, 充分匀浆后 5000rpm 4°C离心 10min, 取上清, 加入 0.1mL 试剂一, 室温放置 10min, 12,000rpm 4°C离心 10min, 取上清, 吸取 20μL 进行蛋白含量的测定, 剩余的作为待测样品。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 370nm, 蒸馏水调零。

2、操作表

试剂名称 (μL)	空白管	测定管
样本	200	200
试剂二		400
试剂三	400	
混匀, 37°C 避光反应 1h。		
试剂四	500	500

静置 5min, 4℃, 12000rpm 离心 15min, 弃上清, 留沉淀。		
试剂五	1000	1000
漩涡混匀, 4℃, 12000rpm 离心 10min, 弃上清, 留沉淀。重复 3 次。		
试剂六	1000	1000
漩涡混匀, 37℃温育 15min, 沉淀全部溶解后, 4℃, 12000rpm 离心 15min, 取上清 1mL 于石英比色皿, 试剂六调零, 测定 OD ₃₇₀ 。		

五、含量的计算

1、按照样本蛋白浓度计算:

$$\begin{aligned} \text{蛋白质羰基含量} (\mu\text{mol}/\text{mg prot}) &= (\text{OD}_{370} \text{测定管} - \text{OD}_{370} \text{空白管}) \div (\epsilon \times d) \times V \div (\text{Cpr} \times V \text{样品}) \\ &= (\text{OD}_{370} \text{测定管} - \text{OD}_{370} \text{空白管}) \div 4.4 \div \text{Cpr}。 \end{aligned}$$

2、按照样本鲜重计算:

$$\begin{aligned} \text{蛋白质羰基含量} (\mu\text{mol}/\text{g 鲜重}) &= (\text{OD}_{370} \text{测定管} - \text{OD}_{370} \text{空白管}) \div (\epsilon \times d) \times V \div (\text{W} \times V \text{样品} \div V \text{提取}) \\ &= (\text{OD}_{370} \text{测定管} - \text{OD}_{370} \text{空白管}) \div 4 \div \text{W}。 \end{aligned}$$

ϵ : 蛋白质羰基消光系数, 22 mL $\cdot\mu\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$; d: 比色皿光径, 1cm; V: 加入试剂六体积, 1mL; V 样品: 加入样本体积, 0.2 mL; V 提取: 加入提取液及试剂一体积, 1.1mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL。 W: 样品质量, g。

六、注意事项

- 1、试剂一使用之前根据要测定的样品数现配, 4℃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。