

蛋白质羰基含量检测试剂盒 (微量法)
(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
YFX0266	蛋白质羰基含量检测试剂盒	100 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 50mL ×1 瓶	4°C
试剂一	粉剂 0.1g×5 支, (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)	4°C, 避光
试剂二	液体 6mL×1 瓶	4°C, 避光
试剂三	液体 6mL ×1 瓶	4°C
试剂四	液体 15mL ×1 瓶	4°C
试剂五	根据测定样品量, 将乙酸乙酯和无水乙醇等体积混合 (自备)。	
试剂六	液体 30mL ×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、漩涡振荡仪、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿 /96 孔板、蒸馏水、无水乙醇、乙酸乙酯。

三、样本准备:

1、组织: 按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液) 进行冰浴匀浆, 于 4°C, 4000g 离心 10min, 取上清, 加入 0.1mL 试剂一, 室温放置 10min, 4°C, 10000g 离心 10min, 取上清待测。

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、加样表

试剂名称 (μL)	对照管	测定管
上清液	60	60
试剂二		120
试剂三	120	
混匀, 37°C 避光反应 1h。		
试剂四	150	150

静置 5min, 4℃, 12000rpm 离心 15min, 弃上清, 留沉淀。		
试剂五	300	300
漩涡混匀, 4℃, 12000rpm 离心 10min, 弃上清, 留沉淀。		
试剂六	300	300
漩涡混匀, 37℃温育 15min, 沉淀全部溶解后, 4℃, 12000rpm 离心 15min, 取上清 200μL 于微量石英比色皿/96 孔板中, 试剂六调零, 测定 OD370。		

五、含量的计算

用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1、按照组织样本蛋白浓度计算:

$$\text{蛋白质羰基含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = (\text{OD}_{370\text{测定管}} - \text{OD}_{370\text{对照管}}) \div (\epsilon \times d) \times V \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr})$$

$$= (\text{OD}_{370\text{测定管}} - \text{OD}_{370\text{对照管}}) \div 4.4 \div \text{Cpr}。$$

2、按照组织样本鲜重计算

$$\text{蛋白质羰基含量 } (\mu\text{mol/g}) = (\text{OD}_{370\text{测定管}} - \text{OD}_{370\text{对照管}}) \div (\epsilon \times d) \times V \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}})$$

$$= (\text{OD}_{370\text{测定管}} - \text{OD}_{370\text{对照管}}) \div 4 \div W。$$

ϵ : 蛋白质羰基消光系数, 22 L/ $\mu\text{mol/cm}$; d : 比色皿光径, 1cm; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.06 mL; V : 加入试剂六体积, 0.3 mL; $V_{\text{提取}}$: 加入提取液及试剂一体积: 1.1mL;
 Cpr : 样本蛋白质浓度, mg/mL, W : 样本质量, g。

用96孔板测定的计算公式如下

1、按照组织样本蛋白浓度计算

$$\text{蛋白质羰基含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = (\text{OD}_{370\text{测定管}} - \text{OD}_{370\text{对照管}}) \div (\epsilon \times d) \times V \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr})$$

$$= (\text{OD}_{370\text{测定管}} - \text{OD}_{370\text{对照管}}) \div 7.3 \div \text{Cpr}。$$

2、按照组织样本鲜重计算

$$\text{蛋白质羰基含量 } (\mu\text{mol/g}) = (\text{OD}_{370\text{测定管}} - \text{OD}_{370\text{对照管}}) \div (\epsilon \times d) \times V \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}})$$

$$= (\text{OD}_{370\text{测定管}} - \text{OD}_{370\text{对照管}}) \div 6.7 \div W。$$

ϵ : 蛋白质羰基消光系数, 22 L/ $\mu\text{mol/cm}$; d : 比色皿光径, 0.6cm; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.06 mL; V : 加入试剂六体积, 0.3 mL; $V_{\text{提取}}$: 加入提取液及试剂一体积: 1.1mL;
 Cpr : 样本蛋白质浓度, mg/mL, W : 样本质量, g。

六、注意事项

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