

蛋白质羰基检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1047

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：血清（浆）、动植物组织、细胞、细菌

产品简介

蛋白质羰基是多种氨基酸在蛋白质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。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法，用于分析各种生物样本中蛋白质羰基含量，其原理是羰基与 2,4-二硝基苯肼反应生成 2,4-二硝基苯腙，在 370nm 处有特征吸收峰。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
提取液	50mL	100mL	4℃ 保存
试剂一	1	1	4℃ 避光保存
试剂二	6mL	12mL	4℃ 避光保存
试剂三	6mL	12mL	4℃ 保存
试剂四	15mL	30mL	4℃ 保存
试剂五	30mL	60mL	4℃ 保存

自备耗材

酶标仪或分光光度计（能测 370nm 处的吸光度）及水浴锅
96 孔 UV 微孔板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头
低温离心机及制冰机
无水乙醇及乙酸乙酯
去离子水
匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。
试剂一：临用前配制；按称取 0.1g 加 1mL 水溶解的比例配制，每 1mL 为 10 个样品用量；4℃ 避光保存。
试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 避光保存。
试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。
试剂四：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。
试剂五：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

样本制备

动植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，4,000g，4℃ 离心 10min，取上清液（若用蛋白浓度计算最终结果，需要在此步取出 20 μL 上清液，加入 2 μL 蒸馏水后用于测定蛋白含量，剩余的进行后续步骤），加 0.1mL 试剂一，室温放置 10min。然后 10,000g，4℃ 离心 10min，取上清液，置冰上待测。

产品说明书

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），4,000g，4℃离心 10min，取上清液（若用蛋白浓度计算最终结果，需要在此步取出 20 μL 上清液，加入 2 μL 蒸馏水后用于测定蛋白含量，剩余的进行后续步骤），加 0.1mL 试剂一，室温放置 10min。然后 10,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

血清（浆）：直接测定。

注意：建议使用新鲜样本。如果不立即使用，可将样品在-80℃下保存 6 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 370nm，分光光度计去离子水调零。
2. 按照下表进行加样及反应：

	对照管（μL）	测定管（μL）
样本	60	60
试剂二	0	120
试剂三	120	0
混匀，37℃避光反应 1h		
试剂四	150	150
静置 5min，4℃，12,000g 离心 15min，弃上清，留沉淀		
无水乙醇	150	150
乙酸乙酯	150	150
漩涡混匀，4℃，12,000g 离心 10min，弃上清，留沉淀，重复三次		
试剂五	300	300

漩涡混匀，37℃温育 15min，沉淀全部溶解后，4℃，12,000g 离心 15min，取上清 200 μL 于 96 孔 UV 微孔板或微量石英比色皿中，370nm 处测定吸光值。 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验，如果 ΔA 大于 1.0，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数；如果 ΔA 小于 0.005，可增加样本量进行检测。

结果计算

A. 使用 96 孔板测定的计算公式

1. 按照样本蛋白浓度计算

蛋白质羰基含量（μmol/mg prot）= $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d)] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) = 0.273 \times \Delta A \div \text{Cpr}$

2. 按照样本重量计算

蛋白质羰基含量（μmol/g 鲜重）= $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d)] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) = 0.273 \times \Delta A \div W$

3. 按照细胞数量计算

蛋白质羰基含量（μmol/ 10^4 cell）= $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d)] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) = 0.273 \times \Delta A \div 500$

4. 按照液体体积计算

蛋白质羰基含量（μmol/mL）= $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d)] \div V_{\text{样}} = 0.273 \times \Delta A$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，0.18 mL； ϵ ：羰基摩尔消光系数，22mL/μmol/cm；d：96 孔板光径，0.5cm； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.06mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL，W：样本质量，g；500：细胞数量， 5×10^6 。

B. 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中的光径 d:0.5 cm 调整为 d:1 cm 进行计算即可。

产品说明书

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1039 过氧化氢 (H_2O_2) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1040 丙二醛 (MDA) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1049 超氧阴离子检测试剂盒 (微量法)



更多产品详情了解，请关注公众号：