

# 总巯基 (-SH) 测试盒

微板法：48T

## 一、测定原理：

5, 5'-二硫代双, 2-硝基苯甲酸 (DTNB) 与巯基化合物反应时能产生一种黄色化合物, 可进行比色定量测定。

## 二、试剂的组成与配制：

试剂一：标准品粉剂, 3 支, 4℃密封保存 6 个月。

10mmol/L 标准品贮备液的配制：每次测定前将 1 支标准品粉剂加 1ml 试剂三缓冲液溶解, 即为 10mmol/L 标准品贮备液, 4℃密封保存。

500 μmol/L 的标准应用液的配制：10mmol/L 标准品：试剂三缓冲液=1：19 即 20 倍稀释配成应用液, 按所需量现用现配。

试剂二：透明剂, 2ml×1 瓶, 4℃密封保存 12 个月 (天冷时会凝固, 每次测试前适当水浴加温以加速溶解, 直至透明方可应用)。

试剂三：缓冲液, 20ml×1 瓶, 4℃密封保存 6 个月。

试剂四：显色剂, 3ml×1 瓶, 4℃避光保存 6 个月。

工作液一的配制：按透明剂：缓冲液：显色剂=1：50：25 的比例混合, 用多少配多少。

工作液二的配制：按透明剂：缓冲液=1：75 的比例混合, 用多少配多少。

## 三、操作步骤：

### 1、样本前处理：

组织样本：准确称取组织重量, 按重量 (g)：体积(ml)=1:9 的比例, 加入 9 倍体积的生理盐水, 冰浴条件下机械匀浆, 制成 10%的组织匀浆, 2500 转/分, 离心 10 分钟, 取上清液待测。血清(浆)样本：直接取样 10 μl

2、操作表:

	标准孔	空白孔	测定孔	对照孔
500 μ mol/L 标准	10μl			
试剂三		10μl		
待测样本			10μl	10μl
工作液一	150μl	150μl	150μl	
工作液二				150μl
轻轻摇动孔板，静置 5 分钟，405nm 波长，用酶标仪测定各孔吸光度 OD 值（30 分钟内完成比色）				

三、计算公式:

1、组织中巯基计算公式:

$$\text{组织中总巯基含量} = \frac{\text{测定 OD 值} - \text{对照 OD 值}}{\text{标准 OD 值} - \text{空白 OD 值}} \times \frac{\text{标准品浓度}}{\text{待测样本蛋白浓度}}$$

(μmol / gprot)                      (500μmol / L)                      (gprot / L)

2、血清中巯基计算公式

$$\text{血清中总巯基含量} = \frac{\text{测定 OD 值} - \text{对照 OD 值}}{\text{标准 OD 值} - \text{空白 OD 值}} \times \text{标准品浓度}$$

(μmol / L)                      (500μmol / L)