

# 蛋白质羰基含量测试盒

(货号: BC117 紫外比色法)

## 一、试剂组成和配制: (试剂盒有效期 3 个月)

试剂组成	试剂状态	50 管/24 样	100 管/48 样	保存条件
试剂一	匀浆介质	50mL×1 瓶	100mL×1 瓶	4°C
试剂二	浅砖红色液体	2.5mL×1 瓶	5mL×1 瓶	4°C 避光
试剂三	黄色液体	10mL×1 瓶	20mL×1 瓶	4°C 避光
试剂四	无色液体	10mL×1 瓶	20mL×1 瓶	4°C
试剂五	无色液体	30mL×1 瓶	60mL×1 瓶	4°C
试剂六	无色液体	70mL×1 瓶	70mL×2 瓶	4°C

## 二、所需仪器及试剂:

紫外分光光度计及石英比色皿, 涡旋混匀器, 高速离心机 (12000rpm), 无水乙醇 (分析纯), 乙酸乙酯 (分析纯), 蛋白测定试剂 (本公司有售)。

## 三、操作步骤:

1、血清(浆)样本: 直接取样测定;

2、组织样本前处理: 准确称取组织重量,按重量(g):体积(mL)=1:9 的比例加入 9 倍的试剂一(如准确称取组织重量 0.1g 加入 0.9mL 的试剂一), 冰水浴条件下机械匀浆, 2500 转/分,离心 10min, 取上清即 10%匀浆 450 $\mu$ L, 加入 50 $\mu$ L 试剂二, 混匀, 室温放置 10min 后, 11000r/min 离心 10min, 取上清按操作表测定;

3、操作表:

	测定管	对照管
样本 (mL)	0.1	0.1
试剂三 (mL)	0.4	
试剂四 (mL)		0.4
漩涡混匀 1 分钟, 37°C 准确避光反应 30 分钟		
试剂五 (mL)	0.5	0.5
洗涤第一次: 漩涡混匀 1 分钟, 在 4°C 下, 以 12000r/min 离心 10min, 弃上清液, 留沉淀		
洗涤液 (mL)	1.0	1.0
洗涤第二次: 漩涡混匀 1 分钟, 在 4°C 下, 以 12000r/min 离心 10min, 弃上清液, 留沉淀		
洗涤液 (mL)	1.0	1.0
洗涤第三次: 漩涡混匀 1 分钟, 在 4°C 下, 以 12000r/min 离心 10min, 弃上清液, 留沉淀		

洗涤液 (mL)	1.0	1.0
洗涤第四次: 漩涡混匀 1 分钟, 在 4°C 下, 以 12000r/min 离心 10min, 弃上清液, 留沉淀		
洗涤液 (mL)	1.0	1.0
洗涤第五次: 漩涡混匀 1 分钟, 在 4°C 下, 以 12000r/min 离心 10min, 弃上清液, 留沉淀		
试剂六 (mL)	1.25	1.25
混匀后, 37°C 准确水浴 15 分钟。取出漩涡混匀, 12000r/min 离心 15min, 取上清液在 370nm 处 (紫外), 0.5cm 光径石英比色皿, 试剂六调零, 测定各管 OD 值。		

#### 4、计算公式:

$$\text{蛋白质羰基含量 (nmol/mgprot)} = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}}{22 \times d \times \text{Cpr}} \times 125 \times 10^5$$

**d:** 比色光径, cm;

**Cpr:** 样本蛋白浓度, mgprot/L (prot 值蛋白)。

#### 5、计算举例:

**例 1:** 取肝素抗凝的人血浆 0.1mL, 按照说明书进行操作, 测得对照管吸光度为 0.006, 测定管吸光度为 0.036, 用双缩脲试剂盒测定的人血浆总蛋白浓度为 54.3mgprot/mL, 将数据代入计算公式:

$$\begin{aligned} \text{蛋白质羰基含量 (nmol/mgprot)} &= \frac{0.036 - 0.006}{22 \times 0.5 \times 54.3 \times 1000} \times 125 \times 10^5 \\ &= 0.628 \text{ nmol/mgprot} \end{aligned}$$

**例 2:** 取大鼠肺组织, 用试剂一制备成 10%匀浆, 按照说明书进行操作, 测得对照管吸光度为 0.012, 测定管吸光度为 0.026, 上清液总蛋白浓度为 6.52mgprot/mL, 将数据代入计算公式:

$$\begin{aligned} \text{蛋白质羰基含量 (nmol/mgprot)} &= \frac{0.026 - 0.012}{22 \times 0.5 \times 6.52 \times 1000} \times 125 \times 10^5 \\ &= 2.44 \text{ nmol/mgprot} \end{aligned}$$

#### 四、测定意义:

一种检测蛋白质羰基含量的试剂盒。可简便、灵敏的检测各种组织器官、血清、培养细胞 (做法同组织样本) 和细胞器等蛋白质羰基含量。其使用不需要昂贵的设备, 样品处理简单, 可广泛应用于各种疾病如衰老、动脉硬化症, 糖尿病和帕金森综合症、风湿性关节炎等疾病的早期诊断, 抗氧化保健食品、抗氧化药物和化妆品等的评价, 还可以用于评价由于一些环境有害因子如辐射、化学毒物等对机体造成的氧化损伤。

#### 五、实验注意点:

- 1、在用无水乙醇乙酸乙酯混合应用液对反应沉淀进行洗涤时, 漩涡混匀一定要剧烈充分, 混匀时间不得少于一分钟, 反应沉淀物必须洗涤至白色, 如果沉淀物还有黄色残留, 适当增加无水乙醇乙酸乙酯混合应用液的洗涤次数, 以保证洗涤充分, 否则会使得测定结果偏高;
- 2、在进行蛋白质羰基测定时, 离心的转速不可以随意降低, 否则会使得测定结果偏高;
- 3、在进行蛋白质羰基测定时, 建议使用圆底的离心管进行实验, 这样在进行无水乙醇乙酸乙酯混合应用液洗涤时, 可以保证沉淀被充分洗涤。不建议使用尖底的离心管进行实验。