

Protein Carbonyl Content Assay Kit

蛋白质羰基(PCO)含量测定试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1755B	蛋白质羰基(PCO)含量测定试剂盒 微板法	96T

产品简介:

蛋白质不仅是生物体的重要组成成分,而且在生命活动中担负重要的功能,对蛋白质氨基酸侧链的氧化可导致羰基产物的积累。因此蛋白质的羰基化被广泛地用于评价各种生物有机体的氧化程度,该指标的检测极具实际意义。

被氧化后的蛋白质羰基可与 2,4-二硝基苯肼(DNPH)反应生成红棕色沉淀的 2,4-二硝基苯腙,接着用盐酸胍溶解沉淀后于 370nm 下的检测,即可得到蛋白质的羰基含量。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	100mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	1mL×1 支	4°C保存	
试剂二	粉末×1 瓶	4°C保存	临用前甩几下,使试剂落入底部,加 3mL 的浓盐酸完全溶解后(可超声溶解),再缓缓加 15mL 蒸馏水,溶解混匀备用。
试剂三	20mL×1 瓶	4°C保存	
试剂四	自备	4°C保存	无水乙醇:乙酸乙酯=1:1 比例配制(如 40mL 的无水乙醇和 40mL 乙酸乙酯混匀备用)
试剂五	40mL×1 瓶	4°C保存	

使用方法:

建议正式实验前,选取 2 个样本做预测定,了解实验样品情况,熟悉流程,避免样本和试剂浪费。

一、样本准备

1. 组织样本:

- 称取约 0.1g 组织,加入 1mL 提取液,进行冰浴匀浆;
- 然后 8000rpm 室温离心 10min,上清备用;
- 上清液与试剂一按照 9:1 比例混合(如 0.45mL 上清液加 0.05mL 试剂一),室温放置 10min;
- 12000rpm,室温离心 10min,取上清待测。

【注】:根据研究需求,可按组织质量(g):提取液体积(mL)为 1:10 的比例进行提取。

2. 细胞/细菌样本:

- 先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;
- 取 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 提取液,超声波破碎细菌或细胞(冰浴,功率 200W,超声 3s,间隔 7s,总时间 3min);
- 8000rpm 室温离心 10min,上清备用;
- 上清液与试剂一按照 9:1 比例混合(如 0.45mL 上清液加 0.05mL 试剂一),室温放置 10min
- 12000rpm 室温离心 10min,取上清待测。

【注】:若增加样本量,按照每 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。



3. 液体样本：直接检测。

二、样品测定

1. 酶标仪预热 30min，调节波长至 370nm，用试剂四调零。
2. 在离心管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	80	-
蒸馏水	-	80
试剂二	160	160
混匀，37°C避光反应 30min		
试剂三	200	200
混匀，4°C，12000rpm 离心 10min，弃上清，留沉淀		
试剂四 (自备)	400	400
漩涡混匀，4°C，12000rpm 离心 10min，弃上清，留沉淀 此步骤 (加试剂四这步) 需做 2 次		
试剂五	400	400
漩涡混匀，37°C温育 15min，沉淀全部溶解后，4°C，12000rpm 离心 10min，取上清 200μL 于 96 孔板中于 370nm 处测定， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$		

【注】1.若沉淀不能完全溶解，可增加试剂五的体积即 V2；或 A 测定的值大于 1.5 可用试剂五稀释检测液；则改变后的 V2 或稀释倍数 D 需代入计算公式重新计算。

2.若 ΔA 小于 0.01，则可增加样本加样体积 V1 (如增至 160μL，则其他试剂不用变)，则改变后的 V1 需代入公式重新计算。

三、结果计算

1. 按照样本重量计算：

$$\text{蛋白质羰基含量}(\mu\text{mol/g 鲜重}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6] \div (W \times V1 \div V \times 9 \div 10) \times D \\ = 0.51 \times \Delta A \div W \times D$$

2. 按照细菌或细胞样本：

$$\text{蛋白质羰基含量}(\mu\text{mol}/10^4\text{cell}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6] \div (\text{细胞数量} \times V1 \div V \times 9 \div 10) \times D \\ = 0.51 \times \Delta A \div \text{细胞数量} \times D$$

3. 按照液体体积：

$$\text{蛋白质羰基含量}(\mu\text{mol}/\text{mL}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6] \div V1 \times D \\ = 0.455 \times \Delta A \times D$$

ϵ ---羰基摩尔消光系数， $22 \times 10^3 \text{L}/\text{mol}/\text{cm}$

d---96 孔板光径，0.5cm

V---加入提取液体积，1 mL

V1---加入样本体积，0.08mL

V2---反应体系总体积， $0.4\text{mL} = 4 \times 10^{-4}\text{L}$

W---样本质量，g

D---稀释倍数，未稀释即为 1

注意事项：

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

4°C保存六个月。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。

