

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K265-M

产品规格: 96T(40 samples)

检测仪器: 酶标仪(410-420 nm)

Elabscience®总巯基(-SH)比色法测试盒

Total Sulfhydryl Group/Total Thiol (-SH)

Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: biochemical@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清、血浆、动物组织样本中的总巯基含量。

检测原理

巯基化合物与 5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)反应，在中性或碱性条件下，生成黄色产物，并且在 412 nm 处有最大吸收峰。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	20 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	显色剂 (Chromogenic Agent)	1.3 mL×1 支	2-8℃ 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	标准品 (Standard Powder)	粉剂×2 支	2-8℃ 保存 6 个月
	96 孔酶标板	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张	
	样本位置标记表	1 张	

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。
对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(410-420 nm，最佳检测波长 412 nm)

试剂：无水乙醇（AR），生理盐水（0.9% NaCl）

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 5 mmol/L标准品溶液的配制：

取一支试剂三，用 10 mL 生理盐水溶解，未用完部分 2-8℃ 保存 1 天。

③ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mmol/L)	0	0.05	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
5 mmol/L 标准品(μL)	0	10	20	40	80	120	160	200
生理盐水(μL)	1000	990	980	960	920	880	840	800

样本准备

① 样本处理

血清血浆等液体样本：直接进行测定。

组织样本：取 0.020-1.0 g 新鲜组织块，按照重量（g）：体积（mL）= 1: 9 的比例加入生理盐水（0.9% NaCl），进行匀浆，4℃，10000 × g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：9.91-1000 μmol/L，可参考下表进行稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	4-6	兔血清	3-5
人血浆	4-6	猪血清	4-6
人尿液	不稀释	10%大鼠肾脏组织	4-6
10%大鼠肝脏组织	4-6	10%大鼠脾脏组织	4-6

注：稀释液为生理盐水（0.9% NaCl）。

实验关键点

① 该试剂盒中含刺激性气味试剂，请在通风橱中进行实验。

② 当样本的蛋白浓度过高，在显色剂加入后，会引起显色体系浑浊，此时应稀释样本后重新检测。

操作步骤

- ① 标准孔：取 40 μL 不同浓度标准品，加入到对应的标准孔中。
测定孔、对照孔：取 40 μL 待测样本，加入到对应板孔中。
- ② 向①中各孔加入 150 μL 试剂一。
- ③ 向②中标准孔、测定孔加入 10 μL 试剂二。
向②中对照孔加入 10 μL 无水乙醇。
- ④ 在酶标仪上振板 5 s，覆膜室温静置 10 min，酶标仪 412 nm 处，测定各孔 OD 值。

操作表

	标准孔	测定孔	对照孔
不同浓度标准品(μL)	40	--	--
待测样本(μL)	--	40	40
试剂一(μL)	150	150	150
试剂二(μL)	10	10	--
无水乙醇(μL)	--	--	10
在酶标仪上振板 5 s，覆膜室温静置 10 min，酶标仪 412 nm 处，测定各孔 OD 值。			

结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

血清(浆)样本中总巯基(-SH)含量计算公式：

$$\begin{array}{l} \text{总巯基含量} \\ (\mu\text{mol/L}) \end{array} = (\Delta A_{412} - b) \div a \times 1000^* \times f$$

组织样本中总巯基(-SH)含量计算公式：

$$\begin{array}{l} \text{总巯基含量} \\ (\mu\text{mol/g 组织湿重}) \end{array} = (\Delta A_{412} - b) \div a \div \frac{m}{V} \times f$$

注解：

y：标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

a：标曲斜率

b：标曲截距

x：标准品的浓度

ΔA_{412} ：样本测定 OD 值-对照 OD 值

*：1 mmol/L=1000 $\mu\text{mol/L}$

f：样本加入检测体系之前的稀释倍数

m：组织的湿重，建议m取0.1 g

V：组织处理过程中加入匀浆介质的体积，建议V取0.9 mL

附录1 关键数据

1. 技术参数

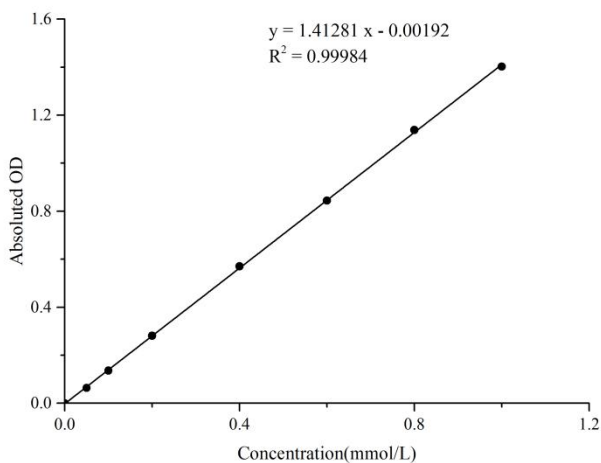
检测范围	9.91-1000 $\mu\text{mol/L}$	平均批间差	2.9 %
灵敏度	9.91 $\mu\text{mol/L}$	平均批内差	2.5 %
平均回收率	104 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①标准品浓度测定数据：

标准品浓度 (mmol/L)	0	0.05	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
OD 值	0.078	0.141	0.216	0.358	0.647	0.922	1.219	1.486
	0.077	0.142	0.213	0.358	0.649	0.921	1.214	1.474
平均 OD 值	0.078	0.142	0.214	0.358	0.648	0.922	1.216	1.480
绝对 OD 值	0.000	0.064	0.136	0.281	0.570	0.844	1.138	1.402

②制标准曲线，如下图所示：



附录2 实例分析

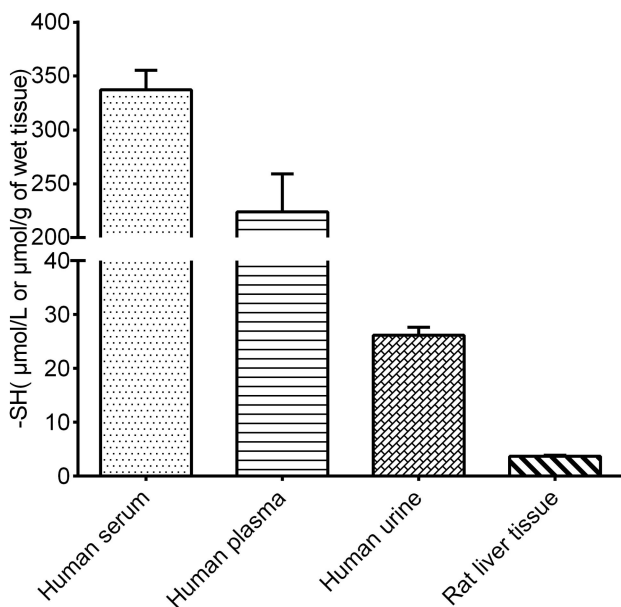
例如检测人血清(数据仅供参考):

取40 μL 人血清样本, 用生理盐水稀释5倍后, 按照说明书操作, 结果如下:

总巯基的标准曲线: $y = 1.5351x - 0.0023$, 测定孔平均OD值为0.216, 对照孔平均OD值为0.115, 计算结果为:

$$\text{总巯基含量} (\mu\text{mol/L}) = (0.216 - 0.115 + 0.0023) \div 1.5351 \times 1000 \times 5 = 336.46 \mu\text{mol/L}$$

按照说明书操作, 测定人血清(稀释5倍, 加样量40 μL)、人血浆(稀释5倍, 加样量40 μL)、人尿液(加样量40 μL)和10%大鼠肝脏组织(稀释5倍, 加样量40 μL)中总巯基含量 (如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
对照 OD 值高	稀释倍数过低	选择合适的稀释倍数
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数，重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本，重新检测
样本测量结果>1000 $\mu\text{mol/L}$	样本浓度太高	选择合适稀释倍数，重新检测

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Du S, Zhou N, Xie G, et al. Surface-engineered triboelectric nanogenerator patches with drug loading and electrical stimulation capabilities: Toward promoting infected wounds healing[J]. *Nano Energy*, 2021, 85:106004. IF:17.087
2. Bartolini D, Arato I, Mancuso F, et al. Melatonin modulates Nrf2 activity to protect porcine pre-pubertal Sertoli cells from the abnormal H₂O₂ generation and reductive stress effects of cadmium. *J Pineal Res.* 2022;73 (1):e12806. IF:13.007
3. Yang Z, Wang J, Ai S, et al. Self-generating oxygen enhanced mitochondrion-targeted photodynamic therapy for tumor treatment with hypoxia scavenging[J]. *Theranostics*, 2019, 9(23): 6809. IF:11.556
4. Wan Q, Cao R, Wen G, et al. Sequential use of UV-LEDs irradiation and chlorine to disinfect waterborne fungal spores: Efficiency, mechanism and photoreactivation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 423:127102-. IF:10.588
5. Tian J, Wang L, Hui S, et al. Cadmium accumulation regulated by a rice heavy-metal importer is harmful for host plant and leaf bacteria. *J Adv Res.* 2022. IF:10.479
6. Jg A, Jie S B, Jy B, et al. Comparative toxicity reduction potential of UV/sodium percarbonate and UV/hydrogen peroxide treatments for bisphenol A in water: An integrated analysis using chemical, computational, biological, and metabolomic approaches[J]. *Water Research*, 2020, 190. IF:9.702
7. Yang X X, Xu X, Wang M F, et al. A nanoreactor boosts chemodynamic therapy and ferroptosis for synergistic cancer therapy using molecular amplifier dihydroartemisinin[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2022, 20(1):1-19. IF:9.464
8. Liu Z, Liu X, Yang Q, et al. Neutrophil membrane-enveloped nanoparticles for the amelioration of renal ischemia-reperfusion injury in mice[J]. *Acta Biomaterialia*, 2020, 104: 158-166. IF:8.947
9. Huang S, Le H, Hong G, et al. An all-in-one biomimetic iron-small interfering RNA nanoplatform induces ferroptosis for cancer therapy. *Acta Biomater.* 2022;148:244-257. IF:8.291
10. Alharbi YM, Sakr SS, Albarrak SM, et al. Antioxidative, Antidiabetic, and Hypolipidemic Properties of Probiotic-Enriched Fermented Camel Milk Combined with *Salvia officinalis* Leaves Hydroalcoholic Extract in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11 (4):. IF:7.675
11. Wang H, Huang Q, Zhang Z, et al. Transient post-operative overexpression of CXCR2 on

monocytes of traumatic brain injury patients drives monocyte chemotaxis toward cerebrospinal fluid and enhances monocyte-mediated immunogenic cell death of neurons in vitro[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2022. IF:7.573

12. Liu P, Yin Z, Chen M, et al. Cytotoxicity of adducts formed between quercetin and methylglyoxal in PC-12 cells[J]. *Food Chemistry*, 2021, 352(2):129424. IF:7.514
13. Adhikari B, Adhikari M, Ghimire B, et al. Cold plasma seed priming modulates growth, redox homeostasis and stress response by inducing reactive species in tomato (*Solanum lycopersicum*)[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2020, 156: 57-69. IF:7.376
14. Zhao X, Wang C,Dai S, et al. Quercetin Protects Ethanol-Induced Hepatocyte Pyroptosis via Scavenging Mitochondrial ROS and Promoting PGC-1 α -Regulated Mitochondrial Homeostasis in L02 Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:4591134. IF:7.31
15. Chagas TQ, Freitas ÍN, Montalvão MF, Nobrega RH, Machado MRF, Charlie-Silva I, Araújo APDC, Guimarães ATB, Alvarez TGDS, Malafaia G. Multiple endpoints of polylactic acid biomicroplastic toxicity in adult zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Chemosphere*. 2021 Aug;277:130279. IF:7.086
16. Mlindeli Gamede, Lindokuhle Mabuza, Phikelelani Ngubane, et al. Preventing the onset of diabetes-induced chronic kidney disease during prediabetes: The effects of oleanolic acid on selected markers of chronic kidney disease in a diet-induced prediabetic rat model[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*.2021 Jul;139:111570. IF:6.529
17. Yang H, Zhu Y, Ye Y, et al. Nitric oxide protects against cochlear hair cell damage and noise-induced hearing loss through glucose metabolic reprogramming.[J]. *Free radical biology & medicine*, 2021. IF:6.525
18. Rao M J, Xu Y, Tang X, et al. CsCYT75B1, a Citrus CYTOCHROME P450 Gene, Is Involved in Accumulation of Antioxidant Flavonoids and Induces Drought Tolerance in Transgenic Arabidopsis[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2020, 9(2):161. IF:6.313
19. Liou G G, Hsieh C C, Lee Y J, et al. N-Acetyl Cysteine Overdose Inducing Hepatic Steatosis and Systemic Inflammation in Both Propacetamol-Induced Hepatotoxic and Normal Mice[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(3):442. IF:6.312
20. Wang Y, Chi H, Xu F, et al. Cadmium chloride-induced apoptosis of HK-2 cells via interfering with mitochondrial respiratory chain[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 236:113494-. IF:6.233
21. Obaid QA, Al-Shammari AM, Khudair KK. Glucose Deprivation Induced by Acarbose and Oncolytic Newcastle Disease Virus Promote Metabolic Oxidative Stress and Cell

Death in a Breast Cancer Model. *Front Mol Biosci.* 2022;9:816510. IF:6.113

22. Abdel-Wahab BA, Walbi IA, Albarqi HA, Ali FEM, Hassanein EHM. Roflumilast protects from cisplatin-induced testicular toxicity in male rats and enhances its cytotoxicity in prostate cancer cell line. Role of NF- κ B-p65, cAMP/PKA and Nrf2/HO-1, NQO1 signaling[J]. *Food Chem Toxicol.* 2021 May;151:112133. IF:6.023
23. Aljutaily T. Evaluating the Nutritional and Immune Potentiating Characteristics of Unfermented and Fermented Turmeric Camel Milk in Cyclophosphamide-Induced Immunosuppression in Rats. *Antioxidants (Basel).* 2022;11 (4):. IF:5.952
24. Jabbari N, Nawaz M, Rezaie J. Ionizing Radiation Increases the Activity of Exosomal Secretory Pathway in MCF-7 Human Breast Cancer Cells: A Possible Way to Communicate Resistance against Radiotherapy[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(15):3649-. IF:5.923
25. Shanmugarajan D, Girish C, Harivenkatesh N, et al. Antihypertensive and pleiotropic effects of *Phyllanthus emblica* extract as an add-on therapy in patients with essential hypertension—A randomized double-blind placebo-controlled trial[J]. *Phytotherapy Research*, 2021. IF:5.878
26. Short-Chain Fatty Acid, Sodium Propionate, in Patients on Maintenance Hemodialysis: Beneficial Effects on Inflammatory Parameters and Gut-Derived Uremic Toxins, A Pilot Study (PLAN Study)[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2018. IF:5.688
27. Peng J, Pan J, Mo J, et al. MPO/HOCl Facilitates Apoptosis and Ferroptosis in the SOD1 G93A Motor Neuron of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Oxid Med Cell Longev.* 2022;2022:8217663. IF:5.604
28. Treadmill Exercise Alleviates Brain Iron Dyshomeostasis Accelerating Neuronal Amyloid- β Production, Neuronal Cell Death, and Cognitive Impairment in Transgenic Mice Model of Alzheimer's Disease[J]. *Molecular neurobiology*, 2021, 58(7):3208-3223. IF:5.59
29. Aboulhoda, B. E., Rashed, L. A., Ahmed, H., et al. Hydrogen sulfide and mesenchymal stem cells-extracted microvesicles attenuate LPS-induced Alzheimer's disease[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2021, 236(8):5994-6010 IF:5.546
30. Liu W, Jia H, Guan M, et al. Discovery of novel tubulin inhibitors targeting the colchicine binding site via virtual screening, structural optimization and antitumor evaluation. *Bioorg Chem.* 2022;118:105486. IF:5.508