

双缩脲法蛋白含量检测试剂盒（分光光度计法）

（本试剂盒仅供科研使用）

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0538	双缩脲法蛋白含量检测试剂盒-分光光度计法	50 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
试剂一	液体 ×1 瓶	4°C
标准品	粉剂×1 瓶：5 mg/mL。	4°C

一、产品说明

样品可溶性蛋白质含量常常用于酶活性计算。此外，可溶性蛋白质含量也用于食品等质量分析。

强碱性溶液中，双缩脲与 CuSO_4 形成紫色络合物；紫色络合物颜色的深浅与蛋白质浓度成正比，而与蛋白质分子量及氨基酸成分无关，故可用来测定蛋白质含量。该方法测定范围为 1~10mg 蛋白质，适用于蛋白质浓度高的样品，尤其是动物材料。

二、自备材料

离心机、可见分光光度计、移液器、1mL 玻璃比色皿和蒸馏水。

三、样品制备

- 1、组织样品：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液（自备，根据需要选用酶提取缓冲液或者蒸馏水或者生理盐水）冰浴匀浆，8000g，4°C 离心 10min，取上清，即待测液。（动物样品常常需要稀释）
- 2、细菌、真菌：按照细胞数量（ 10^4 个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min）；然后 8000g，4°C，离心 10min，取上清置于冰上待测。
- 3、液体样品：澄清无色液体样品可以直接测定。

四、操作步骤

正式测定前，必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

- 1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。
- 2、空白管：取 1mL 玻璃比色皿，加入 200 μL 蒸馏水，1000 μL 试剂一，混匀后室温静置 15min，于 540nm 比色，记为 A 空白管。
- 3、标准管：取 1mL 玻璃比色皿，加入 200 μL 标准液，1000 μL 试剂一，混匀后室温静置 15min，于 540nm 比色，记为 A 标准管。
- 4、测定管：取 1mL 玻璃比色皿，加入 200 μL 待测液，1000 μL 试剂一，混匀后室温静置 15min，于 540nm 比色，记为 A 测定管。

五、样本中蛋白浓度含量的计算

$$C_{\text{待测}} (\text{mg/mL}) = C_{\text{标准管}} \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \\ = 5 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}})$$

V 样总: 加入提取液体积, 1mL; V 样: 加入的样本体积, 0.2mL; W: 样本质量, g;
Cpr, 样本蛋白浓度, mg/mL; 10^{-3} : 单位换算系数, 1mL= 10^{-3} L。

六、注意事项

- 1、空白管和标准管只需测定一次。
- 2、样品蛋白浓度须在 1~10mg/ml 范围内, 低于 1mg/ml 不能用此法, 高于 10mg/ml 须做相应稀释。因此测定前用 1~2 个样做预实验, 确保蛋白浓度在 1~10mg/ml 范围内。
- 3、待测样品蛋白提取可用生理盐水、双蒸水或不含蛋白的PBS提取。该法受硫酸铵、Tris 缓冲液干扰, 提取液中应不含这些物质; 否则改用BCA蛋白质含量测定试剂盒。