

## 双缩脲法蛋白含量检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1263

产品规格：100管/96样

### 产品简介：

样本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<sub>4</sub>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。该方法适用于蛋白质浓度高的样本，尤其是动物材料。

### 技术指标：

最低检出限：0.1718mg/mL

线性范围：0.25-12mg/mL

**注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。**

### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	自备	-
试剂一	液体20mL×1瓶	4℃
标准品	液体1mL×1支，5mg/mL	-20℃

### 溶液的配制：

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。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、离心机、移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 液体样本：澄清无色液体样本可以直接测定。
2. 组织样本：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）冰浴匀浆，10000rpm，4℃离心 10min，取上清，即待测液。（动物样本常常需要稀释）
3. 细菌、真菌：按照细胞数量（10<sup>4</sup>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℃，离心 10min，取上清置于冰上待测。

#### 二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长到 540nm，蒸馏水调零。
2. 空白管：取 0.5mL EP 管，加入 40μL 蒸馏水，200μL 试剂一，混匀后室温静置 15min，取 200μL 于微量玻璃比色皿/96 孔板，540nm 比色，记为 A 空白管。
3. 标准管：取 0.5mL EP 管，加入 40μL 标准液，200μL 试剂一，混匀后室温静置 15min，取 200μL 于微量玻璃比色皿/96 孔板，540nm 比色，记为 A 标准管。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

- 测定管：取 0.5mL EP 管，加入 40 $\mu$ L 待测液，200 $\mu$ L 试剂一，混匀后室温静置 15min，取 200 $\mu$ L 于微量玻璃比色皿/96 孔板，540nm 比色，记为 A 测定管。

**注意：**空白管和标准管只需测定 1-2 次。

### 三、样本中蛋白质浓度计算

- 按液体体积计算：

$$\begin{aligned}\text{蛋白质 (mg/mL)} &= C \text{ 标准管} \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \\ &= 5 \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管})\end{aligned}$$

- 按样本质量计算：

$$\begin{aligned}\text{蛋白质 (mg/g 质量)} &= C \text{ 标准管} \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \times V \text{ 样总} \div W \\ &= 5 \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div W\end{aligned}$$

- 按细胞数量计算：

$$\begin{aligned}\text{蛋白质 (mg/10}^4 \text{ cell)} &= C \text{ 标准管} \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \times V \text{ 样总} \div 500 \\ &= 0.01 \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管})\end{aligned}$$

C 标准管：5mg/mL；V 样总：样本总体积，1mL；W：样本质量，g；500：细胞总数，500 万。

### 注意事项：

- 样本蛋白浓度须在 0.25~12mg/mL 范围内，低于 0.25mg/mL 不能用此法，高于 12mg/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 0.25~12mg/mL 范围内。
- 如果吸光值大于 0.44，则需要将样本用蒸馏水稀释后再测定。
- 待测样本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。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com