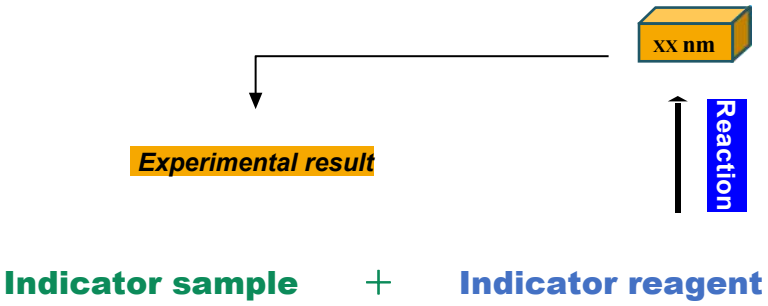
上海茁彩生物科技有限公司

Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

货号：ZC-S0746　　规格：50管/48样

双缩脲法蛋白质含量测定试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定，
确保蛋白浓度在1～10mg/ml范围内。

测定意义

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。

测定原理

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。

自备仪器和用品

离心机、可见分光光度计、移液器、1mL玻璃比色皿和蒸馏水。

试剂组成和配制

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体×1 瓶	4℃保存	–
标准品	液体×1 瓶，5 mg/mL	4℃保存	–

样品中可溶性蛋白质提取

1. 液体样品：澄清无色液体样品可以直接测定。
2. 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℃离心10min，取上清，即待测液。（动物样品常常需要稀释）
3. 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℃，离心10min，取上清置于冰上待测。

测定操作

1. 分光光度计预热30min，调节波长到540nm，蒸馏水调零。
2. 空白管：取1mL玻璃比色皿，加入200μL 蒸馏水，1000μL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200μL标准液，1000μL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200μL待测液，1000μL试剂一，混匀后室温静置15min，于540nm比色，记为A测定管。

注意：空白管和标准管只需测定一次。

样品中蛋白质浓度计算公式

C 待测（mg/mL）= C 标准管×(A 测定管－A 空白管)÷(A 标准管－A 空白管)

=5×(A 测定管－A 空白管)÷(A 标准管－A 空白管)

注意事项：

1. 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。
2. 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。