

双缩脲总蛋白试剂

简介:

双缩脲(NH₂-CO-NH-CO-NH₂)是两个分子脲(即尿素)经 180°C左右加热, 放出一个分子氨(NH₃)后得到的产物。双缩脲试剂用于通过双缩脲反应检测双缩脲, 因蛋白质中也有-CONH-基也可用于检验蛋白质, 与蛋白质接触后的颜色呈紫色, 所产生的颜色密度与参与反应肽键数成比例。可通过比色法分析浓度, 在紫外可见光谱中的波长。双缩脲法测定蛋白浓度兼容性亦很好, 不受大部分样本中其他成分的影响, 但易受铜离子螯合剂影响, 另外, 对于血清总蛋白的双缩脲分析, 胆红素、脂类、血红蛋白、葡聚糖具有一定干扰作用。在鉴定生物组织中是否含有蛋白质时, 常用双缩脲法, 使用的是双缩脲试剂(NaOH+CuSO₄), 发生的是双缩脲反应。双缩脲反应实质是在碱性环境下的 Cu²⁺与双缩脲发生的紫色反应。而蛋白质分子中含有很多与双缩脲结构相似的肽键, 所以蛋白质都能与双缩脲试剂发生颜色反应, 可以用双缩脲试剂鉴定蛋白质的存在。

伊势久双缩脲总蛋白试剂主要由硫酸铜、酒石酸钾钠和氢氧化钠等组成, 在浓度范围内有较好的线性关系, 可以对蛋白质进行精确定量分析。该产品仅适用于科研实验, 不可做他用。

组成:

产品名称	PD006-100ml	PD006-500ml	Storage
双缩脲总蛋白试剂	100ml	500ml	4°C
说明书	一份		

储存条件:

4°C, 12 个月有效。

自备材料:

- 1、 酶标仪或分光光度计
- 2、 96 孔板或离心管

操作步骤(仅供参考):

1、 取蛋白标准配制液或稀释液加入到蛋白标准(BSA)中, 充分溶解后配制成 160 mg/ml 的蛋白标准溶液, 配制后可立即使用, 溶解后的蛋白标准溶液应-20°C保存。

特别提示: 待测蛋白溶解于什么样的稀释液中, 蛋白标准也宜溶解于什么样的稀释液中。例如待测蛋白溶解于蔗糖中, 亦取蛋白标准溶解于蔗糖中。一般也可以用 0.9%NaCl 或 PBS 作为溶解 BSA 稀释液。

- 2、 将标准品按 0, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20 ul 加到 96 孔板的标准品孔, 加稀释液补足。



- 3、加适当体积待测蛋白样本到 96 孔板的样品孔中。如果标准品稀释液与溶解待测蛋白样本的溶液不同，应在待测蛋白样本孔中加入 20 ul 稀释液；如果标准品稀释液与溶解待测蛋白样本的溶液相同，无需在待测蛋白样本孔中加入 1 稀释液。
- 4、各孔加入双缩脲总蛋白试剂。
- 5、测定吸光值。
- 6、根据标准曲线计算出样品的蛋白浓度。

注意事项：

- 1、待测蛋白溶解于什么样的稀释液中，蛋白标准也宜溶解于什么样的稀释液中，否者待测蛋白与蛋白标准中所含非蛋白成分不一致，有可能导致测定不准确。
- 2、待测蛋白和蛋白标准加入双缩脲试剂后，如果发现检测效果不佳，可以室温放置，颜色会随着时间的延长不断加深。显色反应也会随温度升高而加快。如果浓度较低，可以适当延长孵育时间或在较高温度下孵育。
- 3、测定标准曲线时发现随着标准品浓度的增加吸光度或颜色没有明显变化，可能的原因是样品中含有铜离子螯合剂。
- 4、建议每次测定时都做标准曲线。因为颜色会随着时间的延长不断加深，并且显色反应的速度和温度有关，所以除非精确控制显色反应的时间和温度，否则如需精确测定宜每次都做标准曲线。
- 5、如果没有酶标仪，也可以使用普通的分光光度计测定，但应考虑根据比色皿的最小检测体积。应按比例适当加大双缩脲试剂的用量使总体积不小于最小检测体积，样品和标准品的用量亦相应按比例放大。使用分光光度计测定蛋白浓度时，每个试剂盒可以测定的样品数量可能会显著减少。
- 6、检测中发现所有孔都呈暗紫色，可能原因是样品含有还原剂，应适当透析或稀释样品。
- 7、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 8、本产品仅供科研使用，严禁它用。

