

双缩脲法蛋白质含量测定试剂盒说明书

微量法 100T/96S

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。

组成：

产品名称	PMD002-100T/96S	Storage
试剂一：液体	20ml	4°C
标准品：液体	1ml	4°C
说明书	一份	

标准品：液体 1ml×1 瓶，5 mg/ml，4°C 保存。

自备仪器和用品：

离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、移液器和蒸馏水。

样品中可溶性蛋白质提取提取：

- 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°C 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 (10⁴ 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。

测定操作：

1. 分光光度计/酶标仪预热 30 min，调节波长到 540 nm，蒸馏水调零。

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



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 15 min，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 15 min，取 200μl 于微量玻璃比色皿/96 孔板，540 nm 比色，记为 A 标准管。
 4. **测定管**：取 0.5mL EP 管，加入 40μl 待测液，200μl 试剂一，混匀后室温静置 15 min，取 200μl 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一次。**

样品中蛋白质浓度计算公式：

$$C \text{ 待测 (mg/ml)} = C \text{ 标准管} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \\ = 5 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管})$$

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。

