

## 双缩脲法蛋白质含量测定试剂盒说明书

**分光光度法 50T/48S**

**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<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、1 mL 玻璃比色皿和蒸馏水。

**试剂组成和配制：**

试剂一：液体 50mL×1 瓶，4°C 保存。

标准品：液体 1mL×1 瓶，5 mg/mL，4°C 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°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（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°C，离心 10min，取上清置于冰上待测。

**测定操作:**

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

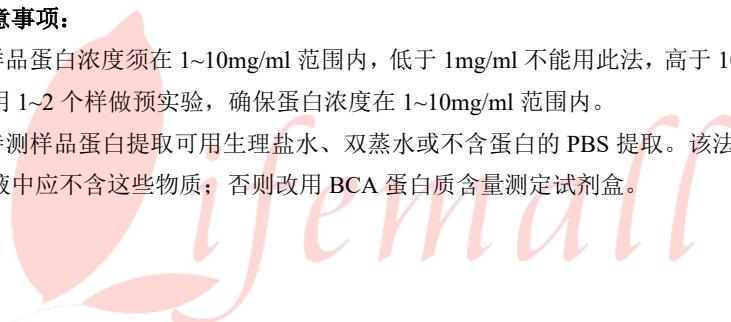
**注意:** 空白管和标准管只需测定一次。

**样品中蛋白质浓度计算公式:**

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

**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。



Lifemall.asia  
To be with you