

## 双缩脲法蛋白定量试剂盒

### Biuret method of Protein Assay Kit

产品编号： C05-02002

产品信息：

编号	组分	产品规格		储存
		50T	100T	
C05-02002-1	试剂 A	10ml	20ml	4℃
C05-02002-2	蛋白标准品	0.5ml(5mg/ml)	1ml(5mg/ml)	-20℃

本试剂盒有效期一年

#### 产品简介：

蛋白质定量是蛋白质研究的基础工作之一。在强碱性溶液中，双缩脲与  $\text{CuSO}_4$  可以形成紫色络合物，其颜色的深浅与蛋白质浓度成正比，与蛋白质分子量及氨基酸成分无关，故可用来进行蛋白质定量检测。

该方法适用于蛋白质浓度高的样品，尤其是动物材料；蛋白质浓度测定范围为 1~10mg/ml。

#### 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 (C05-02001)。
3. 为得到更为精确的蛋白浓度结果，每个蛋白样品均需做复孔。
4. 需自备酶标仪，测定波长为 540 nm；酶标仪需与 96 孔酶标板配套使用。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 使用说明：

##### 一．样品蛋白质提取：

- (1) 组织样品：按照质量体积比 (W/V) 1:5-1:10 向组织样品中加入提取液（蒸馏水、PBS 或生理盐水均可，需自备），进行冰浴匀浆，然后 10000rpm，4℃离心 10min，取上清置于冰上待测。
- (2) 细胞样品：按照  $5 \times 10^6$  个细胞加入 1ml 提取液，冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3min）；然后 10000rpm，4℃离心 10min，取上清置于冰上待测。
- (3) 液体样品：澄清无色液体样品可以直接进行测定。

## 二 . 样品蛋白质浓度测定:

(1) 按下表进行试剂配制:

	试剂 A	样品/标准品/蒸馏水
待测样品	200ul	样 品 40ul
标准品	200ul	标准品 40ul
空白对照	200ul	蒸馏水 40ul

(2) 将各试剂分别进行混匀, 然后室温静置 15min

(3) 分别吸取 200uL 加入 96 孔板中, 测定 540nm 处的吸光度

## 三 . 样品蛋白质浓度计算:

(1) 组织样品:

$C \text{ 蛋白质 (mg/g 鲜重)} = C \text{ 标准品} \div (A \text{ 标准品} - A \text{ 空白对照}) \times (A \text{ 待测样品} - A \text{ 空白对照}) \times V \text{ 总} \div W \text{ 样品}$

(2) 细胞样品:

$C \text{ 蛋白质 (mg/10}^4 \text{ cell)} = C \text{ 标准品} \div (A \text{ 标准品} - A \text{ 空白对照}) \times (A \text{ 待测样品} - A \text{ 空白对照}) \times V \text{ 总} \div Q \text{ 细胞相对数}$

(3) 液体样品:

$C \text{ 蛋白质 (mg/mL)} = C \text{ 标准品} \div (A \text{ 标准品} - A \text{ 空白对照}) \times (A \text{ 待测样品} - A \text{ 空白对照})$

**C 标准品: 5mg/mL;**

**V 总: 样本总体积, ml;**

**W 样品: 样品鲜重, g;**

**Q 细胞相对数: 细胞总数 /10<sup>4</sup>**