

M5 HiPer 双缩脲法蛋白含量检测试剂盒

使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 HiPer 双缩脲法蛋白含量检测试剂盒	100 管/96 样	MF755-01

【产品组成和储存条件】

试剂一：液体 20mL×1 瓶，4℃保存。

标准品：液体 1mL×1 支，5 mg/mL，-20℃保存。

【产品简介】

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。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，故可用于测定蛋白质含量。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】

可见分光光度计/酶标仪、移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板和蒸馏水。

【注意事项】

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

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。

【样品中可溶性蛋白的提取】

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，10000rpm，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 8000rpm，4℃，离心 10min，取上清置于冰上待测。

【操作步骤】

1. 分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长到 540 nm，蒸馏水调零。
2. 空白管：取 0.5 mL EP 管，加入 40 μ L 蒸馏水，200 μ L 试剂一，混匀后室温静置 15 min，取 200 μ L 于微量玻璃比色皿/96 孔板，540nm 比色，记为 A1 空白管。
3. 标准管：取 0.5 mL EP 管，加入 40 μ L 标准液，200 μ L 试剂一，混匀后室温静置 15 min，取 200 μ L 于微量玻璃比色皿/96 孔板，540nm 比色，记为 A2 标准管。
4. 测定管：取 0.5 mL EP 管，加入 40 μ L 待测液，200 μ L 试剂一，混匀后室温静置 15 min，取 200 μ L 于微量玻璃比色皿/96 孔板，540nm 比色，记为 A3 测定管。

【蛋白浓度计算】

- 1、按液体体积计算：

蛋白质 (mg/mL) = C 标准管 \div (A 标准管 - A 空白管) \times (A 测定管 - A 空白管) \div 5 \div (A 标准管 - A 空白管) \times (A 测定管 - A 空白管)

- 2、按样本鲜重计算：

蛋白质 (mg/g 鲜重) = C 标准管 \div (A 标准管 - A 空白管) \times (A 测定管 - A 空白管) \times V 样总 \div W \div 5 \div (A 标准管 - A 空白管) \times (A 测定管 - A 空白管) \div W

- 3、按细胞数量计算：

蛋白质 (mg/10

4 cell) = C 标准管 \div (A 标准管 - A 空白管) \times (A 测定管 - A 空白管) \times V 样总 \div 500 \div 0.01 \div (A 标准管 - A 空白管) \times (A 测定管 - A 空白管)

C 标准管：5mg/mL；V 样总：样本总体积，1mL；W：样本鲜重，g；500：细胞总数，500 万。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。