

Protein Content Assay Kit (Biuret Method)

蛋白含量测定试剂盒(双缩脲法) 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1782B	蛋白含量测定试剂盒(双缩脲法) 微板法	96T

产品简介:

在碱性溶液中, 凡分子中含二个或二个以上酰胺基($-\text{CO}-\text{NH}_2$)或与此相似基团的化合物均与二价铜离子作用, 络合物呈紫色, 这一反应称双缩脲反应。蛋白质分子含有众多肽键($-\text{CONH}-$), 可发生双缩脲反应, 且呈色强度在一定浓度范围内与蛋白质含量成正比, 经光谱扫描 540nm 为最大吸波长。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	100mL×1 瓶	4°C保存	依据实验用量, 临用前试剂一: 试剂二: 超纯水=5:3:2 的比例混匀成反应 mix, 4°C避光保存两周。
试剂一	9mL×1 瓶	4°C避光保存	
试剂二	5.5mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	1mL×1 支	4°C保存	

使用方法:

一、样本准备

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1. 组织样本:

- 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液冰浴匀浆;
- 12000rpm, 4°C离心 10min, 取上清, 即待测液。

2. 细胞/细菌样本:

- 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清;
- 取 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞(冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次);
- 12000rpm 4°C离心 10min, 取上清, 即待测液。

3. 液体样本:

澄清无色液体样品可以直接测定。若浑浊, 离心后取上清检测。

二、样品测定

- 酶标仪预热 30min, 调节波长到 540 nm。
- 可先取 2 个样本预测, 确定适合本批样本的浓度, 若需要可用蒸馏水进行稀释, 稀释倍数 D 代入公式计算。
- 在离心管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	标准管 (只做一次)	空白管 (只做一次)
样本	20	-	-
标准品	-	20	-

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
 注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



蒸馏水	-	-	20
反应 mix	180	180	180
混匀，于 37°C保温 10min，全部转移到 96 孔板， 于 540nm 处测定吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。			

三、结果计算

1. 蛋白含量(mg/g 鲜重) = $(C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (W \times V_1 \div V) \times D$
 $= 10 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D$
2. 蛋白含量(mg/mL) = $(C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (V_1 \div V) \times D$
 $= 10 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$
3. 蛋白含量($\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}$) = $(C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (V_1 \div V \times 500) \times D$
 $= 0.02 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$

C 标准---蛋白标准品浓度，10mg/mL

V---提取液体积：1mL

V1---加入粗提液体积：0.02mL

W---样本质量：g

D---稀释倍数

500---细菌或细胞总数，500 万

注意事项：

1. 本法可测定范围为 1-10mg 蛋白质，适用于精度不高的蛋白质含量测定。
2. 硫酸铵、Tris 缓冲液、EDTA、PVP 和一些氨基酸等物质会对测定造成干扰。
3. 工作液长期放置后若有暗红色沉淀出现，即不能使用。
4. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

4°C保存三个月。

