

双缩脲法蛋白含量检测试剂盒说明书

微量法

货号: BC3185

规格: 100T/96S、200T/192S、500T/490S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	100T 规格	200T 规格	500T 规格	保存条件
提取液	自备	自备	自备	-
试剂一	液体 20 mL×1 瓶	液体 50 mL×1 瓶	液体 110 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支	液体 1 mL×1 支	液体 1 mL×1 支	-20℃保存

溶液的配制：

1. 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。
2. 标准品：5mg/mL BSA标准品；

产品说明：

样本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CuSO₄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。该方法适用于蛋白质浓度高的样本，尤其是动物材料。

技术指标：

最低检出限：0.1718 mg/mL

线性范围：0.25-12 mg/mL

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、离心机、移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

- 1、液体样本：澄清无色液体样本可以直接测定。
- 2、组织样本：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）冰浴匀浆，8000g，4℃离心 10min，取上清，即待测液。（动物样本常常需要稀释）
- 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℃，离心 10min，取上清置于冰上待测。

二、测定步骤

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





- 2、空白管：取0.5mL EP管，加入40μL蒸馏水，200μL试剂一，混匀后常温静置15min，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标准品，200μL试剂一，混匀后常温静置15min，取200μL于微量玻璃比色皿/96孔板，540nm比色，记为A标准管。
- 4、测定管：取0.5mL EP管，加入40μL样本，200μL试剂一，混匀后常温静置15min，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 1-2 次。

三、样本中蛋白质浓度计算

1、按液体体积计算：

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

2、按样本质量计算：

$$\begin{aligned}\text{蛋白质 (mg/g 质量)} &= C_{\text{标准管}} \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}) \times V_{\text{样总}} \div W \times F \\ &= 5 \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}) \div W \times F\end{aligned}$$

3、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned}\text{蛋白质 (mg/10}^4\text{ cell)} &= C_{\text{标准管}} \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}) \times V_{\text{样总}} \div N \times F \\ &= 5 \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}) \div N \times F\end{aligned}$$

C标准管：5mg/mL；V样总：样本总体积，1mL；W：样本质量，g；N：细胞/细菌总数，以万计；F：稀释倍数。

注意事项：

- 1、样本蛋白浓度须在0.25~12mg/mL范围内，低于0.25mg/mL不能用此法，高于12mg/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0.25~12mg/mL范围内。
- 2、如果吸光值大于0.44，则需要将样本用蒸馏水稀释后再测定。
- 3、待测样本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。

相关发表文献：

[1] Cao TQ, An HX, Ma RJ, Dai KY, Ji HY, Liu AJ, Zhou JP. Structural characteristics of a low molecular weight velvet antler protein and the anti-tumor activity on S180 tumor-bearing mice. *Bioorg Chem.* 2023 Feb;131:106304. doi: 10.1016/j.bioorg.2022.106304. Epub 2022 Nov 28. PMID: 36463590.

[2] Jiang Y, Cao S, Zhou B, Cao Q, Xu M, Sun T, Zhao X, Zhou Z, Wang Y. Hemocytes in blue mussel *Mytilus edulis* adopt different energy supply modes to cope with different BDE-47 exposures. *Sci Total Environ.* 2023 Aug 10;885:163766. doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.163766. Epub 2023 May 3. PMID: 37146804.

[3] Yu SS, Shi YJ, Wang D, Qiang TT, Zhao YQ, Wang XY, Zhao JM, Dong LY, Huang YJ, Wang XH. Linking peptide-oriented surface imprinting magnetic nanoparticle with carbon nanotube-based fluorescence signal output device for ultrasensitive detection of glycoprotein. *Anal Chim Acta.* 2023 Jun 8;1259:341202. doi: 10.1016/j.aca.2023.341202. Epub 2023 Apr 8. PMID: 37100478.





[4] Chen P, Liu P, Zhang Q, Bu C, Lu C, Srivastava S, Zhang D, Song Y. Gene Coexpression Network Analysis Indicates that Hub Genes Related to Photosynthesis and Starch Synthesis Modulate Salt Stress Tolerance in *Ulmus pumila*. *Int J Mol Sci*. 2021 Apr 23;22(9):4410. doi: 10.3390/ijms22094410. PMID: 33922506; PMCID: PMC8122946.

[5] Liu X, Liu H, Gu N, Pei J, Lin X, Zhao W. Preeclampsia promotes autism in offspring via maternal inflammation and fetal NF κ B signaling. *Life Sci Alliance*. 2023 Jun 8;6(8):e202301957. doi: 10.26508/lsa.202301957. PMID: 37290815; PMCID: PMC10250690.

