

双缩脲法蛋白含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号: BC3180

规格: 50T/48S

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	规格	保存条件
提取液	自备	-
试剂一	液体 50 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支, 5 mg/mL	-20℃保存

溶液的配制:

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。

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 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: 0.1304 mg/mL

线性范围: 0.5-10 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:

离心机、可见分光光度计、移液器、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器、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 (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 8000g, 4℃, 离心 10min, 取上清置于冰上待测。

二、测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min, 调节波长到 540nm, 蒸馏水调零。
- 2、空白管: 取 1mL 玻璃比色皿, 加入 200 μ L 蒸馏水, 1000 μ L 试剂一, 混匀后室温静置 15min, 于 540nm 比色, 记为 A 空白管。





- 3、标准管：取1mL玻璃比色皿，加入200 μ L标准液，1000 μ L试剂一，混匀后室温静置15min，于540nm比色，记为A标准管。
- 4、测定管：取1mL玻璃比色皿，加入200 μ L待测液，1000 μ L试剂一，混匀后室温静置15min，于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：

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

2、按样本质量计算：

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

3、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned}\text{蛋白质 (mg/10}^4\text{ cell)} &= C_{\text{标准管}} \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}) \times V_{\text{样总}} \div 500 \\ &= 0.01 \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}})\end{aligned}$$

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

注意事项：

- 1、样本蛋白浓度须在0.5~10mg/mL范围内，低于0.5mg/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0.5~10mg/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] Zhang D, Liu J, Zhang Y, Wang H, Wei S, Zhang X, Zhang D, Ma H, Ding Q, Ma L. Morphophysiological, proteomic and metabolomic analyses reveal cadmium tolerance mechanism in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *J Hazard Mater.* 2023 Mar 5;445:130499. doi: 10.1016/j.jhazmat.2022.130499. Epub 2022 Nov 25. PMID: 36455318.
- [2] Liu ZY, Yang HL, Li S, Cai GH, Ye JD, Zhang CX, Sun YZ. Probiotic components of *Bacillus siamensis* LF4 mitigated 尾-conglycinin caused cell injury via modulating TLR2/MAPKs/NF- κ B signaling in *Lateolabrax maculatus*. *Fish Shellfish Immunol.* 2023 Oct;141:109010. doi: 10.1016/j.fsi.2023.109010. Epub 2023 Aug 19. PMID: 37598736.
- [3] Fan X, Fu L, Liu M, Sun Y, Zeng X, Wu Z, Du L, Pan D. Effect of lentinan on gelling properties and structural changes of goose myofibrillar protein under oxidative stress. *J Sci Food Agric.* 2023 Aug 30;103(11):5442-5451. doi: 10.1002/jsfa.12618. Epub 2023 Apr 25. PMID: 37038913.
- [4] 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.
- [5] He S, Li M, Sun Y, Pan D, Zhou C, Lan H. Effects of limited enzymatic hydrolysis and polysaccharide addition on the physicochemical properties of emulsions stabilized with duck myofibrillar protein under low-salt conditions. *Food Chem.* 2024 Jan 1;430:137053. doi: 10.1016/j.foodchem.2023.137053. Epub 2023 Jul 31. PMID: 37549626.

