北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www.bjoka-vip.com
Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-ail:postmaster@oka-vip.com

双缩脲蛋白定量试剂盒

产品简介:

双缩脲是一种用于分析蛋白质的方法,双缩脲反应的原理是在呈蓝色的碱性硫酸铜溶液存在的情况下，肽键与铜离子结合，生成蓝紫色的化合物，此化合物在 540nm 的吸光度与肽键的数量呈正比例关系,因此可计算出蛋白质的含量,双缩脲法测蛋白浓度兼容性亦很好,不受大部分样本中其他成分的影响，但易受铜离子螯合剂的影响，另外对于血清总蛋白的双缩脲分析，胆红素、脂类、血红蛋白、葡聚糖具有一定干扰作用，双缩脲法在 5～160mg/ml 浓度范围内有较好的线性关系。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

编号 / 名称	GCPT0004 500T	GCPT0004 1000T	Storage
试剂(A): 双缩脲试剂	100ml	200ml	RT
试剂(B): 蛋白标准(BSA)	40mg	40mg	RT
试剂(C): 蛋白标准配制液	1.5ml	3ml	RT
使用说明书	1 份		

自备材料:

1、 待测样品(血清、血浆、组织匀浆液)
2、 离心管或小试管、水浴锅或恒温箱、酶标仪或分光光度计、96 孔板或比色皿
3、 生理盐水(0.9%NaCl)或 PBS

操作步骤(仅供参考):

1、 取 0.25ml 蛋白标准配制液或稀释液加入到 40mg 蛋白标准中，充分溶解后即配制成蛋白标准溶液(160mg/ml)，配制后可立即使用，溶解后的蛋白标准溶液应-20℃保存；亦可根据需要进行稀释，如稀释至 40mg/ml。特别提示：待测蛋白溶解于什么样的稀释液中，蛋白标准也宜溶解于什么样的稀释液中，例如待测蛋白溶解于蔗糖溶液中，亦取蛋白标准溶解于蔗糖溶液中，常用 0.9%NaCl 或 PBS 作为总蛋白标准品的稀释液。
2、 将标准品按 0, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20μl 加到 96 孔板的标准品孔，加稀释液补足至 20μl。
3、 加适当体积待测蛋白样本到 96 孔板的样品孔中，如果标准品稀释液与溶解待测蛋白样本的溶液不同，应在待测蛋白样本孔中加入 20μl 稀释液；如果标准品稀释液与溶解待测蛋白样本的溶液相同，无需在待测蛋白样本孔中加入 20μl 稀释液。
4、 各孔加入 200μl 双缩脲试剂，室温放置 10～15min。
5、 测定 540nm 波长处的吸光值，如无 540nm，510～562nm 之间的波长也可。

6、 根据标准曲线计算出样品的蛋白浓度。

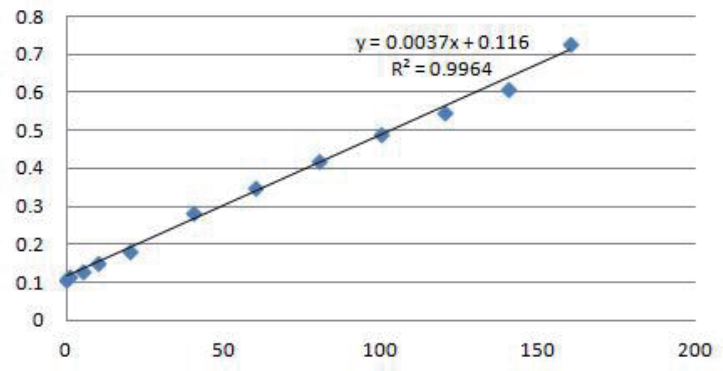
注意事项:

1、 蛋白标准粉末溶解于蛋白标准配制液后，即获得蛋白标准原液，该原液中含有防腐剂，不影响后续检测，该蛋白标准原液-20℃长期保存。
2、 待测蛋白和蛋白标准加入双缩脲试剂后，如果发现检测效果不佳，可以室温放置 1h 或 60℃放置 15min，颜色会随着时间的延长不断加深。
3、 测定标准曲线时发现随着标准品浓度的增加吸光度或颜色没有明显变化，可能的原因是样品中含有铜离子螯合剂。
4、 蛋白浓度低于 20mg/ml 时颜色反应呈不明显的蓝色，当大于 40mg/ml 时即可呈现明显的蓝紫色反应。
5、 本试剂盒的线性范围是 5~160 mg/ml，样品蛋白浓度应大于 1mg/ml，以 20mg/ml 以上为宜，如需测定低浓度蛋白样品(1mg/ml)，请选用 BCA 蛋白定量试剂盒(PT0001)或微量 BCA 蛋白定量试剂盒(PT0006)。
6、 本产品反应生成的蓝紫色的化合物的吸光度与试剂批次、pH 值、反应温度有关，因此建议，每次测定都做标准对照。
7、 氨基酸和二肽不发生双缩脲反应，三肽、寡肽和多肽与铜离子的双缩脲复合物，呈粉红色-紫红色，与蛋白质的双缩脲反应结果不同。
8、 如果没酶标仪，也可以使用分光光度计测定，使用分光光度计测定蛋白浓度时，每个试剂盒可以测定的样品数量会显著减少。
9、 检测中发现所有孔都呈暗紫色，可能原因是样品含有还原剂，应适当透析或稀释样品。
10、 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期： 12 个月有效；常温运输，4℃保存，蛋白标准配制成溶液后应-20℃冻存。

附录：参考标准曲线范围：

用酶标仪测定蛋白质标准 1、5、10、20、40、60、80、100、120、140、160mg/ml 在 540nm 的吸光度(未调零)，空白调零后 40mg/ml 的吸光度为 0.15~0.18，据此做出其标准曲线如下：



测定结果显示，1mg/ml 的吸光度比较低，与空白管接近，因此建议测定样品浓度应大于 1mg/ml，以 20mg/ml 以上为宜，如需测定低浓度蛋白样品(1mg/ml)，请选用 BCA 蛋白定量试剂盒(PT0001)或微量 BCA 蛋白定量试剂盒(PT0006)。

注意：对于 8～16mg/ml 范围内的蛋白样品，要充分考虑如 EDTA、2-ME、DTT 等干扰因素，其检测结果波动较大，标准品亦有波动，请注意小心精细操作。

相关产品：

产品编号	产品名称
GCCZ0030	生理盐水(1×NS,无菌)
GCPS0013	RIPA 裂解液(强)
GCPT0001	BCA 蛋白定量试剂盒
GCPT0006	微量 BCA 蛋白定量试剂盒
GCTC0415	尿蛋白定性检测试剂盒(磺基水杨酸法)
GCTC0511	粪便隐血定性检测试剂盒(邻联甲苯胺法)
GCTC0711	葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD 微板法)
GCTC1167	尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)
GCTO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)