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

肽含量测定试剂盒说明书

酶标法 96 样

一、产品说明

一个氨基酸的氨基与另一个氨基酸的羧基可以缩合成肽，形成的酰胺基在蛋白质化学中称为肽键。氨基酸的分子最小，蛋白质最大，两个或以上的氨基酸脱水缩合形成若干个肽键从而组成一个肽链，多个肽链进行多级折叠就组成一个蛋白质分子。

采用 10%的三氯醋酸溶液将样品中大分子蛋白完全沉淀，同时小分子肽保留在该溶液中，除去蛋白沉淀，肽键能将 Cu^{2+}还原成 Cu^{+}；2 分子的 BCA 与 Cu^{+}结合，生成紫色络合物，在 540-595nm 有吸收峰，562nm 处吸收峰最强。

二、自备仪器和用品

台式离心机、恒温水浴锅、酶标仪、96 孔板、移液器和蒸馏水。

三、试剂组成

试剂名称	规格	保存温度	配置方法	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存		
试剂 A	液体 25mL×1 瓶	4℃保存	工作液配制：将试剂 A 和 B 按照 50：1 的比例混合，60℃水浴 30min 备用	用多少配多少现用现配
试剂 B	液体 0.5mL×1 支	4℃保存		
四肽标准品	液体×1 支	4℃保存		0.5mg/mL

四、样本制备

组织样本：

称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆静置 30min，12000rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

液体样本：

取 0.5mL 液体加入 1mL 的提取液，充分混匀静置 30min，12000rpm，4℃离心 10min 取上清液进行测定

四、肽含量测定:

1. 酶标仪预热 30min，调节波长到 562 nm。
2. 在 96 孔板中加入下列试剂

	空白管	测定管	标准管
蒸馏水（μL）	10		
标准品（μL）			10
样本（μL）		10	
工作液（μL）	190	190	190
混匀后置于 60℃烘箱盖上盖子保温 30min，于 96 孔板，于 562nm 处测定各管吸光值，记为 A 空白、A 测定、A 标准			

注：如吸光值差值大于 1 可以将上清液稀释后进行检测。

六、肽含量计算公式

肽（mg/mL）= C 标×(A 测定-A 空白)÷(A 标准-A 空白)÷V 样×（V 样+V 提）

=0.5×(A 测定-A 空白)÷(A 标准-A 空白)÷V 样×（V 样+V 提）

肽（mg/g 鲜重）=C 标×(A 测定-A 空白)÷(A 标准-A 空白)÷W

=0.5×(A 测定-A 空白)÷(A 标准-A 空白)÷W

V 样：液体样本体积 0.5 mL，V 提：加入的提取液的体积：1mL，C 标：0.5mg/mL