

## 铜蓝蛋白(Ceruloplasmin, Cp)测定试剂盒说明书

微量法 100T/48S

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

### 测定意义：

铜蓝蛋白是血浆的含铜蛋白，有运输铜的功能，同时具有氧化酶的活性，是细胞外液重要的抗氧化剂。

### 测定原理：

铜蓝蛋白催化 3,3',5,5'-四甲基联苯胺生成蓝色产物，在 645nm 处有特征吸收峰，依此可得铜蓝蛋白活性。

### 组成：

产品名称	AO010-100T/48S	Storage
试剂一：液体	10ml	4°C
试剂二：液体	7ml	4°C
试剂三：液体	15ml	4°C避光
说明书	一份	

试剂三：液体 15ml×1 瓶，4°C 避光保存。（使用前 37°C 预热）

### 自备仪器和用品：

天平、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板和蒸馏水。

### 测定操作表

- 1、分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 645nm，蒸馏水调零。
- 2、操作表

	空白管	测定管
样品 (μl)	30	30
试剂一 (μl)	90	90
试剂二 (μl)	60	
混匀，37°C 预热 5min		
试剂三 (μl)	120	120
混匀，37°C 反应 30min		
试剂二 (μl)		60
混匀，25°C 室温放置 5min，取 200μl 于微量石英比色皿/96 孔板中，测定 645nm 处吸光		

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



值。

$\Delta A = A$  测定 - A 空白。

### 计算公式:

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

#### 1、按体积计算

酶活定义:37°C条件下, 每分钟每毫升样品与底物作用吸光度升高 0.01 为一个酶活单位。

$$\text{Cp 活力 (U/ml)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div 0.01 \div V_{\text{样}} \div T = 33.33 \times \Delta A$$

#### 2、按鲜重计算

单位定义: 37°C条件下, 每分钟每克样品与底物作用吸光值升高 0.01 为一个酶活单位。

$$\text{Cp 活力 (U/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div 0.01 \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 33.33 \times \Delta A \div W$$

#### 3、按蛋白浓度计算

单位定义: 37°C条件下, 每分钟每毫克蛋白样品与底物作用吸光值升高 0.01 为一个酶活单位。

$$\text{Cp 活力 (U/ mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div 0.01 \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 33.33 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

V 样: 0.03 ml; V 反总: 0.3 ml; T: 反应时间, 30min; V 样总: 加入提取液体积, 1ml; C<sub>pr</sub>: 样本蛋白质浓度, mg/ml; W: 样本质量, g

b. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

#### 1、按体积计算

酶活定义:37°C条件下, 每分钟每毫升样品与底物作用吸光度升高 0.005 为一个酶活单位。

$$\text{Cp 活力 (U/ml)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div 0.005 \div V_{\text{样}} \div T = 66.66 \times \Delta A$$

#### 2、按鲜重计算

单位定义: 37°C条件下, 每分钟每克样品与底物作用吸光值升高 0.005 为一个酶活单位。

$$\text{Cp 活力 (U/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div 0.005 \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 66.66 \times \Delta A \div W$$

#### 3、按蛋白浓度计算

单位定义: 37°C条件下, 每分钟每毫克蛋白样品与底物作用吸光值升高 0.005 为一个酶活单位。

$$\text{Cp 活力 (U/ mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div 0.005 \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 66.66 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

V 样: 0.03 ml; V 反总: 0.3 ml; T: 反应时间, 30min; V 样总: 加入提取液体积, 1ml; C<sub>pr</sub>: 样本蛋白质浓度, mg/ml; W: 样本质量, g

### 注意事项:

试剂二和试剂三有一定的毒性和刺激性, 请操作时做好防护措施。

