

铜蓝蛋白(CP)检测试剂盒(胺比色法)

产品简介

铜蓝蛋白(Ceruloplasmin, CP)又称为亚铁氧化酶或铜蓝蛋白氧化酶,是存在于肝脏、肾脏、血清等中的 α_2 -糖蛋白,每个CP分子含有6~8个铜原子,其中 Cu^{2+} 和 Cu^{1+} 各占一半,故呈蓝色。CP具有铁氧化还原酶活性,能使 Fe^{2+} 氧化为 Fe^{3+} ,CP酶活性并非专一,可与 Fe^{2+} 、联苯胺、二甲基二苯胺、联大茴香胺等底物反应,可据此检测CP活性。

铜蓝蛋白(CP)检测试剂盒(胺比色法)其检测原理是铜蓝蛋白在弱酸条件下CP催化胺底物,生成淡棕黄色产物,终止反应后生成紫红色溶液,通过分光光度计或酶标仪检测540nm处吸光度,根据公式可计算出CP活性,主要用于检测血清、血浆等样品中的铜蓝蛋白,50T可检测23~24个样品。该试剂盒仅用于科研领域,不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成

名称 \ 编号	ADS041TE0 50T	Storage
试剂(A):CP Assay Buffer	50ml	RT
试剂(B):胺基质液	10ml	4℃ 避光
试剂(C):CP 终止液	250ml	RT
使用说明书	1 份	

自备材料

- 1、蒸馏水
- 2、水浴锅或恒温箱
- 3、比色杯或96孔板
- 4、分光光度计或酶标仪

操作步骤(仅供参考)

1、准备样品:

①血浆、血清和尿液样品:血浆、血清按照常规方法制备,可以直接用于该试剂盒的测定,尿液通常也可以直接用于测定, -20℃冻存,用于CP的检测。

②细胞或组织样品:取恰当细胞或组织进行匀浆,低速离心取上清, -20℃冻存,用于CP的检测。

③高活性样品：如果样品中含有较高活性的CP，可以使用CP Assay Buffer稀释。

④(选做)样品准备完毕后可以用BCA蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度，以便于后续计算单位蛋白重量组织或细胞内的CP含量。

- 2、CP加样：按照下表设置测定管 I、测定管 II,溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡。如果样品中的铜蓝蛋白浓度过高，可以减少样品用量或用CP Assay Buffer稀释后再进行测定，但应记录实际样品用量，并且根据实验方案调整计算公式。

加入物(ml)	测定管 I	测定管 II
血清、血浆等样品	0.05	0.05
CP Assay Buffer	0.75	0.75
30℃孵育 5min，平衡温度。		
胺基质液(提前预热至 30℃)	0.2	0.2
	准确孵育 5min	准确孵育 15min
CP 终止液	5(立即混匀取出)	5(立即混匀取出)

- 3、CP测定：以蒸馏水调零，比色杯光径1.0cm，分光光度计或酶标仪540nm处测定测定管 I、测定管 II的吸光度(分别记为 A_{5min} 和 A_{15min})。

计算：CP国际活力单位的定义：在最适pH和底物浓度下，1min能催化1 μ mol底物所需的CP 酶量为一个国际活力单位。其计算公式如下：

$$\text{CP 活力(IU/L)} = (A_{15min} - A_{5min}) \times 6 \times 1000 / (10 \times 0.05 \times 9.46) = (A_{15min} - A_{5min}) \times 1268$$

式中： A_{5min} = 测定管 I 的吸光度

A_{15min} = 测定管 II 的吸光度

6 = 反应液总体积(ml)

10 = 孵育时间差值(min) = 15 - 5

0.05 = 样品用量(ml)

9.46 = 吸光系数

注意事项

- 1、待测样品一般采用血清，4℃可稳定3天，-20℃可稳定1个月。
- 2、胺基质液应注意防止挥发，可以-20℃保存，12个月有效。
- 3、用含有柠檬酸、EDTA抗凝血对本法测定有一定干扰。
- 4、实验全程注意控制温度和pH值。
- 5、加入CP终止液后，应立即混匀以终止酶促反应。
- 6、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：6个月。室温运输，按要求保存。