

## 铜蓝蛋白(Ceruloplasmin, Cp)测定试剂盒说明书

分光光度法 50 管/24 样

**注 意：**正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

### 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。

### 自备实验用品及仪器：

天平、可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿和蒸馏水。

### 试剂组成和配制：

试剂一：液体 15mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂二：液体 10mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂三：液体 20mL×1 瓶，4℃ 避光保存。（使用前 37℃ 预热）

### 测定操作表：

- 1、血清（浆）等液体样本：直接检测。
- 2、动植物组织样本：称取约 0.1g 组织，加入 1mL 蒸馏水，进行冰浴匀浆。10000g，4℃ 离心 10min，取上清，置冰上待测。

|  |     |     |
|--|-----|-----|
|  | 空白管 | 测定管 |
| 样品（μL）   | 100 | 100 |
| 试剂一（μL）  | 300 | 300 |
| 试剂二（μL）  | 200 |     |
| 混匀，37℃ 预热 5min                                       |     |     |
| 试剂三（μL）  | 400 | 400 |
| 混匀，37℃ 反应 30min                                      |     |     |
| 试剂二（μL）  |     | 200 |
| 混匀，25℃ 放置 5min，1 mL 玻璃比色皿，空白管调零，测定 OD <sub>645</sub> |     |     |

### 计算公式：

#### 1、按体积计算

单位定义：37℃ 条件下，每分钟每毫升样品与底物作用吸光值升高 0.01 为一个酶活单位。

$$\text{Cp 活力 (U/mL)} = \frac{\text{OD}_{645}}{0.01} \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 33.33 \times \text{OD}_{645}$$

#### 2、按鲜重计算

单位定义：37℃ 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。

$$\text{Cp 活力 (U/g 鲜重)} = \frac{\text{OD}_{645}}{0.01} \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 33.33 \times \text{OD}_{645} \div W$$

### 3、按蛋白浓度计算

单位定义：37℃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。

$$\text{Cp 活力 (U/mg prot)} = \frac{\text{OD}_{645}}{0.01} \times V_{\text{反应}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 33.33 \times \text{OD}_{645} \div C_{\text{pr}}$$

V 样：0.1 mL；V 反应：1 mL；T：反应时间，30min；V 样总：加入提取液体积，1mL；Cpr：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。