

铜蓝蛋白(Ceruloplasmin, Cp)测定试剂盒说明书

微量法 100T/96S

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:

铜蓝蛋白催化邻联大茴香胺二盐酸盐生成红色产物，在 540nm 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:

研钵、冰、低温离心机、酶标仪、96 孔板、可调式移液器和蒸馏水。

试剂组成和配制:

试剂一：液体 120mL×1 瓶，4℃保存。

试剂二：粉剂×1 瓶，4℃避光保存。临用前加入 5mL 水溶解，用不完的试剂 4℃保存。

样本前处理:

- 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 试剂一，进行冰浴匀浆。10000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

测定操作表:

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 540nm。
- 2、操作表

在 96 孔板中依次加入如下试剂

	测定管
样品 (μL)	10
试剂一 (μL)	150
试剂二 (μL)	40
混匀，30℃下测定 540nm 处吸光值。记录初始吸光值 A1 与 10min 后吸光值 A2， $\Delta A = A2 - A1$ 。	

计算公式:

1、按体积计算

酶活定义:30℃条件下，每分钟每毫升样品消耗 1nmol 底物为一个酶活单位。

$$CP(U/mL) = (\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}}) \div V_{\text{样}} \div T = 417 \times \Delta A$$

2、按鲜重计算

单位定义：30℃条件下，每分钟每克样品消耗 1nmol 底物为一个酶活单位。

$$CP(U/g \text{ 鲜重}) = (\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}}) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 417 \times \Delta A \div W$$

3、按蛋白浓度计算

单位定义：30℃条件下，每分钟每毫克蛋白样品消耗 1nmol 底物为一个酶活单位。

$$CP(U/mg \text{ prot}) = (\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}}) \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 417 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

ϵ : 消光系数, $9.6 \times 10^3 \text{ mL/nmol/cm}$; d : 96 孔板光径, 0.5 cm; $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 0.2 mL; C_{pr} : 上清液蛋白质浓度, mg/mL; W : 样品质量; $V_{\text{样}}$: 加入反应体系中上清液体积, 0.01 mL; $V_{\text{样总}}$: 提取液体积, 1 mL; T : 反应时间, 10min。