



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

铜蓝蛋白(CP)检测试剂盒(胺比色法)

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。

源叶生物 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。

组成:

名称 \ 编号	R22191 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°C 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°C 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°C 孵育 5min, 平衡温度。		
胺基质液(提前预热至 30°C)	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 $A_{5\text{min}}$ 和 $A_{15\text{min}}$)。

计算:



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

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:

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

式中: $A_{5\text{min}}$ = 测定管I的吸光度

$A_{15\text{min}}$ = 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 $^{\circ}$ C可稳定 3 天, -20 $^{\circ}$ C可稳定 1 个月。
- 2、胺基质液应注意防止挥发, 可以-20 $^{\circ}$ C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 个月有效; 4 $^{\circ}$ C运输, 4 $^{\circ}$ C保存。