铜蓝蛋白(Ceruloplasmin，Cp)测定试剂盒说明书

微量法 100T/48S

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/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板和蒸馏水。

试剂组成和配制:

试剂一：液体 10mL×1 瓶，4℃保存。
试剂二：液体 7mL×1 瓶，4℃保存。
试剂三：液体 15mL×1 瓶，4℃避光保存。（使用前 37℃预热）

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 蒸馏水，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、 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℃预热 5min		
试剂三（μL）	120	120
混匀，37℃反应 30min		
试剂二（μL）		60
混匀，25℃室温放置 5min，取 200μL 于微量石英比色皿/96 孔板中，测定 645nm 处吸光值。ΔA=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℃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。

Cp 活力（U/mL）=ΔA×V 反总÷0.01÷V 样÷T = 33.33×ΔA

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。

Cp 活力（U/g 鲜重）=ΔA×V 反总÷0.01÷（W×V 样÷V 样总）÷T = 33.33×ΔA÷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。
Cp 活力（U/ mg prot）=ΔA×V 反总÷0.01÷（Cpr×V 样）÷T = 33.33×ΔA÷Cpr

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；
Cpr：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℃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。
Cp 活力（U/mL）=ΔA×V 反总÷0.005÷V 样÷T = 66.66×ΔA
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 0.005 为一个酶活单位。
Cp 活力（U/g 鲜重）=ΔA×V 反总÷0.005÷（W×V 样÷V 样总）÷T = 66.66×ΔA÷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 0.005 为一个酶活单位。
Cp 活力（U/ mg prot）=ΔA×V 反总÷0.005÷（Cpr×V 样）÷T = 66.66×ΔA÷Cpr
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；
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。