

## 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 $\alpha$ 2-糖蛋白,每个CP分子含有6~8个铜原子,其中Cu<sup>2+</sup>和Cu<sup>1+</sup>各占一半,故呈蓝色。CP具有铁氧化还原酶活性,能使Fe<sup>2+</sup>氧化为Fe<sup>3+</sup>,CP酶活性并非专一,可与Fe<sup>2+</sup>、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。

Perfemiker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。

### 自备材料:

1、蒸馏水 2、水浴锅或恒温箱、比色杯或96孔板、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<sub>5min</sub>和A<sub>15min</sub>)。

**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  $1\mu\text{mol}$  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<sub>5min</sub>=测定管 I 的吸光度

A<sub>15min</sub>=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、本产品主要用于人血清铜蓝蛋白的检测，某些样品可能不适用。
- 3、胺基质液应注意防止挥发，可以-20℃保存，12 个月有效。
- 4、用含有柠檬酸、EDTA 抗凝血对本法测定有一定干扰。
- 5、实验全程注意控制温度和 pH 值。
- 6、加入 CP 终止液后，应立即混匀以终止酶促反应。
- 7、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 8、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

**有效期：**6 个月有效；低温运输，按要求保存。