

## 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 $\text{Cu}^{2+}$ 和 $\text{Cu}^{1+}$ 各占一半,故呈蓝色。CP具有铁氧化还原酶活性,能使 $\text{Fe}^{2+}$ 氧化为 $\text{Fe}^{3+}$ ,CP酶活性并非专一,可与 $\text{Fe}^{2+}$ 、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。

Biorigin 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。

### 产品组成:

名称	编号	BN27247	Storage
		50T	
试剂(A): CP Assay Buffer		50ml	RT
试剂(B): 胺基质液		10ml	4°C 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、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°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于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  $A_{5min}$  和  $A_{15min}$ )。

**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 $\mu$ 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：

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

式中： $A_{5min}$  = 测定管 I 的吸光度

$A_{15min}$  = 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°C 可稳定 3 天，-20°C 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°C 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。