

总蛋白检测试剂盒(双缩脲比吸光度比色法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

产品简介：

总蛋白(Total Protein, TP)由白蛋白和球蛋白组成，对于生物体液(血清、尿液、脑脊液)中总蛋白质含量的测定，一般要基于如下两个假设：1、所有蛋白质分子由纯多肽组成，含氮量的质量百分比为 16%；2、体液中含有数百个蛋白质分子，每个分子对测定反应都具有非常相似的特性，目前常用的检测总蛋白的方法有：双缩脲法、紫外分光光度法、染料结合法、凯氏定氮法、沉淀法等。

总蛋白检测试剂盒(双缩脲比吸光度比色法)多用于人或动物血清、血浆、组织等样本中的总蛋白含量测定，无需与标准品进行比对，双缩脲反应的原理是在呈蓝色的碱性硫酸铜溶液存在的情况下，铜离子与肽键形成有色螯合的铜复合物，呈紫色，所产生的颜色密度与参与反应肽键数成比例，可通过比色法分析浓度，在紫外可见光谱中的波长为 540nm。双缩脲比吸光度比色法是按照 Dumas 方法所规定的双缩脲试剂、控制反应条件和校准分光光度计的情况下，根据蛋白质双缩脲复合物的比吸光度，无需检测标准品吸光度，直接计算出总蛋白质浓度，该试剂盒 120T 可检测约 60 个样本。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

名称	规格	保存条件
总蛋白检测试剂盒(双缩脲比吸光度比色法)	120T	4℃
试剂(A):Dumas 双缩脲试剂	250ml	4℃
试剂(B):双缩脲空白试剂	250ml	4℃
试剂(C):ddH ₂ O	10ml	RT
使用说明书	1 份	
有效期	1 年	

自备材料：

- 1、离心管、小试管
- 2、水浴锅或恒温箱
- 3、比色杯
- 4、精密分光光度计

操作步骤(仅供参考):

1、样本处理:血清、血浆样本直接取 50 μl 检测,对于组织样本,按组织质量(g):生理盐水(ml)=1:9 比例,加入 9 倍体积的生理盐水或 PBS,冰浴下匀浆后,2500g 离心 10min,取 50 μl 上清待检。

2、TP 加样:按照下表设置系列管,溶液应按照顺序依次加入,并注意避免产生气泡。如果样品浓度过高,可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定,样品的检测最好能设置平行管。

加入物(ml)	蒸馏水 调零管	双缩脲 调零管	试剂 空白管	样本 空白管	测定管
ddH2O	2.04	—	0.04	—	—
待检样品(血清、血浆、组织匀浆液)	—	—	—	0.04	0.04
双缩脲空白试剂	—	2.04	—	2	—
Doumas 双缩脲试剂	—	—	2	—	2

3、TP 测定:混匀,25℃孵育 30min,用经过校准的精密分光光度计,比色杯光径 1cm,测定 540nm 波长处的吸光度;读取测定管和试剂空白管的吸光度时,以蒸馏水调零管调零;读取样本空白管的吸光度时,以双缩脲调零管调零。

计算:

$$\text{总蛋白(g/L)} = (\text{Ac}/0.298) \times (2.16/0.016) = (\text{Ac}/0.298) \times 51$$

式中:校正吸光度(Ac)=At-(Ar+As)

At=测定管的吸光度

Ar=试剂空白管的吸光度

As=样本空白管的吸光度

0.298 为蛋白质双缩脲复合物的比吸光系数,是按 Doumas 标准方法,双缩脲反应溶液中蛋白质浓度为 1g/L 时的吸光度

注意事项:

1、上述计算公式是以所用分光光度计波长准确,带宽≤2nm、比色杯光径准确 1cm 时,总蛋白含量根据比吸光度直接计算。

2、如果没有分光光度计,也可以使用酶标仪测定,使用酶标仪测定蛋白浓度时,每个试剂盒可以测定的样品数量可能会显著增加。

- 3、检测中发现所有孔都呈暗紫色，可能原因是样品含有还原剂，应适当透析或稀释样品
- 4、检测比色杯准确光径很重要，可用钴盐或重铬酸钾进行检测，其吸光度分别为 0.556 和 0.535，如检测的吸光度与实际不符，应进行校正，校正系数 $F=A_s/A_m$ 。其计算公式为:总蛋白(g/L)=(Ac/0.298)×51×F