

总蛋白检测试剂盒(双缩脲比吸光度比色法)

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 Doumas 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 \ 编号	ADS060TC0 120T	Storage
试剂(A): Doumas 双缩脲试剂	250ml	4°C
试剂(B): 双缩脲空白试剂	250ml	4°C
试剂(C): ddH ₂ O	10ml	RT
使用说明书	1 份	

自备材料

- 1、离心管、小试管、水浴锅或恒温箱、比色杯、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 μ l 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 μ l 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
ddH ₂ O	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

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

式中：校正吸光度(A_c)= $A_t - (A_r + A_s)$

A_t =测定管的吸光度

A_r =试剂空白管的吸光度

A_s =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

- 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。
- 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。
- 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
- 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 $F = A_c / A_m$ 。其计算公式为：总蛋白(g/L) = $(A_c / 0.298) \times 51 \times F$
- 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期：12个月；室温运输，按要求保存。