总蛋白检测试剂盒(双缩脲比吸光度微板法)

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(双缩脲比吸光度微板法)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:

编号 / 名称	GCTC0553 120T	Storage
试剂(A): Doumas 双缩脲试剂	25ml	4℃
试剂(B): 双缩脲空白试剂	25ml	4℃
试剂(C): ddH_2O	2ml	RT
使用说明书	1 份	

自备材料:

1、 96 孔板或小试管、水浴锅或恒温箱、精密酶标仪

操作步骤(仅供参考):

1、 样本处理：血清、血浆样本直接取 20μl 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 16μl 上清待检。

2、 TP 加样：按照下表设置系列孔，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孔。

加入物(μl)	蒸馏水调零孔	双缩脲调零孔	试剂空白孔	样本空白孔	测定孔
ddH_2O	216	—	16	—	—
待检样品(血清、血浆、组织匀浆液)	—	—	—	16	16
双缩脲空白试剂	—	216	—	200	—
Doumas 双缩脲试剂	—	—	200	—	200

3、TP 测定：混匀, 25℃孵育 30min，用经过校准的精密酶标仪，测定 540nm 波长的吸光度；读取测定孔和试剂空白孔的吸光度时，以蒸馏水调零孔调零；读取样本空白孔的吸光度时，以双缩脲调零孔调零。

计算：总蛋白(g/L)=(A_c/0.298)×(2.16/0.016)=(A_c/0.298)×51

式中：校正吸光度(A_c)=A_t-(A_r+A_s)

A_t=测定孔的吸光度

A_r=试剂空白孔的吸光度

A_s=样本空白孔的吸光度

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酶标仪波长准确，带宽≤2nm 时，总蛋白含量根据比吸光度直接计算。

2、如果没有酶标仪，也可以使用分光光度计测定，使用分光光度计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减少，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)=(A_c/0.298)×51×F。

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、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期：12 个月有效；室温运输，按要求保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
GCDP0013	GUS 染色液(即用型)
GCDZ2011	环保浸蜡脱蜡透明液
GCTC1167	尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)