# 产品简介：

**总蛋白检测试剂盒(双缩脲微板法)**

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。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。双缩脲法测定蛋白浓度兼容性亦很好，不受大部分样本中其他成分的影响，但易受铜离子螯合剂影响。本试剂盒仅用于科 研领域，不宜用于临床诊断或其他用途。

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **产品组成：** |  | | |
|  |  | **TC0545** |  |
|  |  | 120T |  |
| 试剂(A): | 双缩脲试剂 | 25ml | 4℃ |
| 试剂(B): | 蛋白标准 | 20mg | RT |
| 试剂(C): | 蛋白标准配制液 | 2ml | RT |
| 试剂(D): | 双缩脲空白试剂 | 10ml | 4℃ |

# 自备材料：

1、96 孔板或小试管

2、水浴锅或恒温箱

3、酶标仪

**操作步骤**(仅供参考)**：**

1、取 1ml 蛋白标准配制液或稀释液加入到蛋白标准中，充分溶解后配制成 20mg/ml 的蛋白标准溶液，配制后可立即使用，溶解后的蛋白标准溶液应-20℃保存。亦可按自己试 验要求继续进行稀释，如稀释至 1mg/ml。特别提示：待测蛋白溶解于什么样的稀释液

中，蛋白标准也宜溶解于什么样的稀释液中。例如待测蛋白溶解于蔗糖中，亦取蛋白标 准溶解于蔗糖中。一般也可以用 0.9%NaCl 或 PBS 作为溶解白蛋白标准品的稀释液。

2、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=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 20μl 上清待检。

3、TP 加样操作，按下表依次加入试剂：

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 加入物(μl) | 空白孔 | 标准孔 | 待测孔 |
| ddH2O | 20 |  |  |
| 蛋白标准溶液(如 1mg/ml)  待检样品(血清、血浆、组织匀浆液) |  | 20 | 20 |
| 双缩脲试剂 | 200 | 200 | 200 |

4、混匀, 37℃孵育 10min。

5、酶标仪测定 540nm 波长处的吸光度，如无 540nm，520～562nm 之间的波长也可。以空白孔调零，读取标准孔和各待测孔的吸光度。

6、当遇到浑浊或溶血样本等，可设”样本空白孔”：取 20μl 待测样品加入 200μl 双缩脲空白试剂，以双缩脲空白试剂调零，读取样本空白孔吸光度。用待测孔吸光度减去标本空白孔吸光度后的净吸光度，计算总蛋白浓度。

# 计算：

总蛋白(g/L)=(待测管吸光度/标准管吸光度)×蛋白标准液浓度(g/L)

# 注意事项：

1、 蛋白标准粉末溶解于蛋白标准配制液后，即获得蛋白标准原液，该原液中含有防腐剂，

不影响后续检测，该蛋白标准原液-20℃长期保存。

2、 待测蛋白和蛋白标准加入双缩脲试剂后，如果发现检测效果不佳，可以室温放置 1h 或60℃放置 15min，颜色会随着时间的延长不断加深。

3、 测定标准曲线时发现随着标准品浓度的增加吸光度或颜色没有明显发化，可能的原因是

样品中含有铜离子螯合剂。

4、 如果没酶标仪，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。

5、 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。

**有效期：** 12 个月有效。蛋白标准配制成溶液后应-20℃冻存。