



总蛋白检测试剂盒(双缩脲比吸光度比色法)

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。

源叶生物总蛋白检测试剂盒(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。

组成:

名称 \ 编号	R21615 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
- 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 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 $^{\circ}$ C 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:

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



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

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分光光度计波长准确, 带宽 $\leq 2\text{nm}$ 、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) = $(A_c / 0.298) \times 51 \times F$

有效期: 12 个月有效; 常温运输, 4℃ 保存。