

总蛋白检测试剂盒（双缩脲比吸光度微板法）

产品货号：BA1759

产品规格：120T

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。本试剂盒120T可检测60个样本, 仅用于科研领域, 不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

试剂名称	120T	保存条件
试剂(A): Dumas 双缩脲试剂	25ml	4℃
试剂(B): 双缩脲空白试剂	25mg	4℃
试剂(C): ddH ₂ O	2ml	室温

自备材料：

1. 96孔板或小试管
2. 水浴锅或恒温箱
3. 精密酶标仪

操作步骤：

1. 样本处理: 血清、血浆样本直接取 20 μ l 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 16 μ l 上清待检。
2. TP 加样操作, 按下表依次加入试剂:

加入物(ml)	蒸馏水调零孔	双缩脲调零孔	试剂空白孔	样本空白孔	待测孔
ddH ₂ O	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	-
Dumas 双缩脲试剂	-	-	200	-	200

3. 混匀, 25℃水浴孵育 30min。
4. 用经过校准的精密酶标仪, 测定 540nm 波长处的吸光度。读取待测孔和试剂空白孔的吸光度时, 以蒸馏水调零孔调零点; 读取样本空白孔的吸光度时, 以双缩脲调零孔调零点。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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 =待测管吸光度

A_r =试剂空白管吸光度

A_s =样本空白管吸光度

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 1.0g/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 $\leq 2\text{nm}$ 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)=($A_c/0.298$) $\times 51 \times F$
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。

保存条件:

12 个月有效。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>