总蛋白（TP）比色法测试盒(双缩脲法)

货号: E-BC-K165-S **方法:** 比色法

检测仪器: 紫外-可见光分光光度计（540 nm） **规格:** 100 Assays(96 samples)/ 500 Assays(480 samples)

注意事项: 加样时需准确操作，37℃反应10 min须严格控制。

基本信息

用途 本试剂盒适用于检测血清、血浆、动植物组织样本中的蛋白含量

技术参数 检测范围：0.373-80 g/L 灵敏度：0.373 g/L

平均批间差：2.6% 平均批内差：1.2%

平均回收率：99%

检测原理 凡分子中含有两个氨基甲酰基(-CONH2)的化合物都能与碱性铜溶液作用，形成紫色复合物，这一反应称为双缩脲反应,蛋白质分子中有许多肽键(-CONH-)都能起此反应，各种蛋白显色程度基本相同。

提供试剂及物品

编号	名称	规格1 (100 Assays)	规格2 (500 Assays)	保存方式
试剂一 (Reagent 1)	铜试剂 (Copper Reagent)	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8°C 保存6个月
试剂二 (Reagent 2)	碱试剂 (Alkali)	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8°C避光 保存6个月
试剂三 (Reagent 3)	50 g/L蛋白标准品 (50 g/L Protein Standard)	1.6 mL×1 支	5 mL×1瓶	-20°C 保存6个月

注：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同批次试剂盒中的试剂不能混用。

试剂准备

① 试剂三从-20℃取出，放在冰上缓慢融化（避免反复冻融），其他试剂平衡至室温。

② 规格(100 Assays)试剂配制：

试剂一工作液的配制：

取一瓶试剂一用100 mL双蒸水溶解，2-8℃保存3个月。

试剂二工作液的配制：

取一瓶试剂二用200 mL双蒸水溶解，2-8℃避光保存3个月。

双缩脲工作液的配制：

按试剂一工作液：试剂二工作液为1:2的体积比混匀，配好后的工作液可在2-8℃下避光保存3个月。

③规格(500 Assays)试剂配制：

试剂一工作液的配制：

取一瓶试剂一用250 mL双蒸水溶解，2-8℃保存3个月。

试剂二工作液的配制：

取一瓶试剂二用500 mL双蒸水溶解，2-8℃避光保存3个月。

双缩脲工作液的配制：

按试剂一工作液：试剂二工作液为1:2的体积比混匀，配好后的工作液可在2-8℃下避光保存3个月。

样本准备

血清血浆等液体样本：可直接测定。

组织样本：匀浆介质PBS（0.01 M，pH 7.4）或生理盐水（0.9% NaCl），匀浆离心后取上清进行测定。

操作步骤

① 空白管：取50 μL的生理盐水，加入5 mL EP管中；

标准管：取50 μL的50 g/L蛋白标准品，加入5 mL EP管中；

测定管：取50 μL的待测样本，加入5 mL EP管中。

② 向步骤①中的各管加入2500 μL双缩脲工作液，涡旋混匀。

③ 37℃ 孵育10 min，流水冷却。

④ 540 nm，1 cm光径石英比色皿，双蒸水调零，测定各管吸光度。

结果计算

蛋白浓度计算公式：

$$\text{总蛋白（TP）含量（g/L）} = \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times c \times f$$

注解：

ΔA_1：样本OD值 - 空白OD值

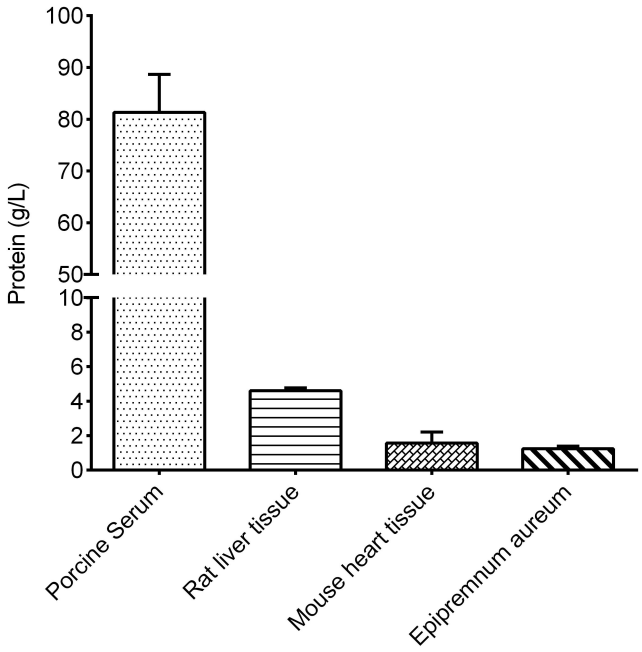
ΔA_2：标准OD值 - 空白OD值

c：标准品浓度（50 g/L）

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

实例分析

取50 μL猪血清，按说明书操作，结果如下：空白管平均OD值为0.119，标准管平均OD值为0.342，测定管平均OD值为0.565，计算结果为：

$$\text{蛋白浓度（g/L）} = \frac{0.565 - 0.119}{0.342 - 0.119} \times 50 \times 1 = 100\ \text{g/L}$$

按照说明书，测定猪血清（加样量50 μL）、大鼠肝脏组织（5%组织匀浆，加样量50 μL）、小鼠心脏组织（5%组织匀浆，加样量50 μL）和绿萝叶子（10%组织匀浆，加样量50 μL）中的蛋白含量（如下图）：