**总蛋白（TP）定量试剂盒(双缩尿法)说明书**（货号：PYB2057，规格：96T）

1. **实验原理：**

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。

1. **试剂组份**：

试剂一：粉剂×1瓶，4℃保存，用时加双蒸水100mL常温搅拌溶解。试剂二：粉剂×1瓶，4℃保存，用时加双蒸水200mL常温搅拌溶解。

双缩脲试剂的配制：按试剂一︰试剂二**=1:2**的比例进行配制，配好后4℃保存3个月内有效。

**[**注**]**：切记不能将试剂一、试剂二粉剂混合后再加水溶解。

蛋白标准液：液体×1支(浓度见标签),-20℃以下保存。（尽量避免反复冻融）

所需仪器耗材及试剂：

含 540nm 波长的分光光度计及 1cm 光径比色皿（或酶标仪及 96 孔板）、 37℃水浴锅或恒温箱、台式低速离心机、各种规格移液器、烧杯、双蒸水、涡旋混匀器、试管或离心管。

1. **实验步骤：**

**1**、样本前处理：

①、血清（浆）样本：直接取样50μL进行测定。

② 组织样本：组织样本不推荐用此法测。

**2**、操作表：

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | 空白管 | 标准管 | 测定管 |
| 双蒸水(mL) | 0.05 |  |  |
| 蛋白标准品(mL) |  | 0.05 |  |
| 待测样本(mL) |  |  | 0.05 |
| 双缩脲试剂(mL) | 2.5 | 2.5 | 2. |
| 混匀，37℃反应10分钟，流水冷却后，540nm，光径1cm，双蒸水调零，测各管吸光值。  测定OD植-空白OD植 | | | |

计算公式：待测样本蛋白浓度(g/l)= ×蛋白标准液浓度

标准OD植-空白OD植

1. **注意事项：**
2. 本试剂盒适合检测蛋白含量在 **10**～**80g/L** 的样本**(**如血清、血浆**)**，如蛋白含量高于 **80g/L**，须用生理盐水稀释至此范围内。 如蛋白含量在 10g/L 以下（组织或细胞样本），建议使用本所的考马斯亮兰法或 BCA法蛋白测定试剂盒。