

尿蛋白定量试剂盒

规格：100 管/96 样

检测原理：CBB 法

检出限：1 mg/L

检测波长：595nm

编号：ml300881

线性范围：5-100 mg/L

注意：

- 1、正式测定前务必取 3 - 5 个预期差异较大的样本做预测定；
- 2、为了您的安全和健康，请佩戴好防护用具；

测定原理：

在酸性溶液中，考马斯亮蓝 G-250 (Coomassie Brilliant Blue) 与蛋白质结合形成蓝色复合物；该复合物在 595nm 处有最大吸收峰，其颜色的深浅与蛋白质的浓度成正比。该方法灵敏度高，适合微量蛋白质分析。

自备仪器和用品：

可见分光光度计、1cm 光径比色皿、酶标仪、96 孔板、可调式移液器、离心机、震荡仪、提取液、冰、蒸馏水

试剂清单：

试剂名称	规格	数目	贮藏	
试剂一	液体 60mL	x1	4°C,避光	临用前用蒸馏水稀释 5 倍 (1mL 试剂一加入 4mL 蒸馏水)，现用现配
标准品	液体 1mL	x1	-20°C	500mg/L BSA 标准溶液

实验准备:

- 1、分光光度计/酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 595nm;

测定操作:

- 1、在 EP 管中依次操作

试剂名称 (mL)	测定管	空白管 (*只做一管)	标准管 (*只做一管)
样本待测液	0.05	-	
蛋白标准液(40mg/L)			0.05
蒸馏水	-	0.05	
试剂一	3	3	3
混匀, 室温(25°C)静置 5min 后转移至 1mL 玻璃/塑料比色皿(光径 1cm)中 于 595nm 测定各管吸光值			

结果计算:

尿蛋白浓度 mg/L=(A 标准-A 空白)÷(A 测定-A 空白)×标准品浓度(500mg/L)×D (样本加样前稀释倍数)

注意:

- 1、若 A 测定管过高 (A 测定-A 空白 > 2 (A 标准-A 空白)) 时, 要将样本用生理盐水作一定稀释后 (选择 A 测定接近 A 标准对应的稀释倍数) 再测;
- 2、若蛋白浓度过低建议增加样本取样量, 同时标准品应同比稀释后和样本体积一致;
- 3、去污剂、Triton X-100、SDS、Tween 20/60/80、NaOH(≥0.1mol/L) 溶液和强碱性缓冲液对检测有影响;
- 4、应使用玻璃或塑料材质比色皿, 检测完成后可用 95%乙醇冲洗; 不可使用石英(二氧化硅)比色皿(染色难以清洗);
- 5、本试剂盒也可用酶标仪来读数 (如在反应液静置 5 分钟后从每管中各取 0.2mL 到 96 孔板中 (注意不要加入气泡), 595nm 处读数), 计算公式不变。

预实验的意义：

比色法检测试剂盒预实验非常重要

- 1、确定该试剂盒是否适合客户的样本检测，以免造成试剂盒和样本的浪费（比如低表达处理的样本）；
- 2、熟悉生化试剂盒的操作流程，尤其是初次使用生化试剂盒测定；
- 3、确定样本的处理方法及稀释倍数是否合适；
- 4、了解实验过程中可能出现的实验现象或问题，以便于及时作出调整；
- 5、通过 3 - 5 组预实验，判断试剂盒对于样本的最佳适应稀释浓度范围，指导实验样本稀释比例。