CheKine™ 总蛋白（TP）含量检测试剂盒（双缩脲法）

Cat #: KTB2223 Size: 48 T/48 S 96 T/96 S

≠	**检测范围：**0.25-10 g/L		**灵敏度：**0.25 g/L
	适用样本：动植物组织、细胞、细菌、血清（浆）		
	保质期：4℃，避光保存 12 个月		

01 背景与原理

总蛋白（Total Protein, TP）由白蛋白和球蛋白组成,在机体中具有重要的生理功能，血清总蛋白的测定是临床生化检验的重要项目之一。

本试剂盒检测原理是肽键与碱性铜溶液形成紫色复合物，在 540 nm 处有吸收峰。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
Reagent Ⅰ	24 mL	48 mL	4℃避光保存
Standard	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃

注意：正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 540 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水、生理盐水	溶解试剂/提取样本用
其他	匀浆器（用于组织样本）、超声破碎仪、低温离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- **正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。**
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，**请在实验全程做好生物安全防护**，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Reagent Ⅰ	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Standard	临用前配制；加入 1 mL 去离子水，充分溶解得 100 g/L BSA 标准品	4℃保存 4 周
5 g/L BSA 标准品	取 5 μL100 g/L BSA 标准品，加入 95 μL 去离子水得到 5 g/L BSA 标准品	稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本。样本尽量新鲜提取，如果不能当天提取，则把完整细胞或者分装的组织块保存在-80℃，一个月内使用。当准备好进行该项实验时，将样本从-80℃拿出后，冰上解冻。但是请注意，这可能会影响样本的稳定性，实验结果可能会低于预期。

- **动植物组织：**称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL 生理盐水，冰浴匀浆，8000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。（动物样本常常需要稀释）
- **血清（浆）：**直接检测。（建议预实验）
- **细菌：**收集细菌样本，用冷 PBS 清洗细菌，800 g 离心 2 min，弃上清液。取约 0.05 g 样本，加入 1 mL 生理盐水，冰浴超声破碎细胞（功率 300 W，超声 3 S，间隔 7 S，重复 30 次）；然后 8000 g，4℃，离心 10 min，取上清置于冰上待测。
- **细胞：**收集细胞样本，用冷 PBS 清洗细胞或细菌，800 g 离心 2 min，弃上清液。取细胞数量（10^6 个）加入 1 mL 提取液，冰浴超声破碎细胞（功率 300 W，超声 3 S，间隔 7 S，重复 30 次）；然后 8000 g，4℃，离心 10 min，取上清置于冰上待测。
- **样本稀释：**在正式检测前，需选择 2-3 个预期差异大的样本用生理盐水稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，选择合适的稀释倍数，参考下表稀释(仅供参考)

样本	稀释倍数
动物组织	6-10 倍
血清（浆）	5-8 倍
细菌、细胞	不稀释
植物组织	不稀释

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备：**酶标仪调节波长到 540 nm。
2. **检测体系配制**：在 96 孔板中按照如下方式操作，标准孔和空白孔只需做 1 次。（样本蛋白浓度在 0.25-10 g/L 范围内）

试剂	测定孔（μL）	标准孔（μL）	空白孔（μL）
去离子水	0	0	40
样本	40	0	0
5 g/L BSA 标准品	0	40	0
Reagent Ⅰ	200	200	200

3. **吸光度检测：**混匀，室温（25℃）避光孵育 10 min，记录 540 nm 处吸光值 A，分别记为 $A_{测定}$，$A_{标准}$和 $A_{空白}$。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧**二维码**或访问官网[https://www.abbkine.cn] > 进入“**技术中心**”> 查找“**在线计算器**”**工具**。

06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{空白}$，$\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}$。

2. 总蛋白含量的计算：

- 按液体体积计算：

总蛋白(mg/mL)=$C_{标准}\div\Delta A_{标准}\times\Delta A_{测定}\times V_{样总}\times n=5\div\Delta A_{标准}\times\Delta A_{测定}\times n$

- 按样本质量计算：

总蛋白(mg/g)=$C_{标准}\div\Delta A_{标准}\times\Delta A_{测定}\times V_{样总}\div W\times n=5\div\Delta A_{标准}\times\Delta A_{测定}\div W\times n$

- 按细胞数量计算：

总蛋白(mg/10^4)=$C_{标准}\div\Delta A_{标准}\times\Delta A_{测定}\times V_{样总}\div N\times n=5\div\Delta A_{标准}\times\Delta A_{测定}\div N\times n$

$C_{标准}$：5 g/L；$V_{样总}$：样本总体积，1 mL；W：样本质量；N：细胞/细菌总数，以 10^4 为单位（例如细胞数量为 1×10^6，N=100）；n：稀释倍数。

07 结果展示

注意：以下数据仅供参考，实验者需根据自己的实验对样品进行检测。

示例-1：取小鼠肝组织 0.085 g 按照测定步骤操作后将待测液稀释 10 倍，用 96 孔板进行检测。测得$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{空白}=0.151-0.132=0.019$，$\Delta A_{标}=A_{标}-A_{空}=0.269-0.132=0.137$。按样本质量计算得：总蛋白(mg/g 质量)=$C_{标准}\div\Delta A_{标准}\times\Delta A_{测定}\times V_{样总}\div W\times n=5\div\Delta A_{标准}\times\Delta A_{测定}\times V_{样总}\div W\times n=5\div0.137\times0.019\div0.085\times10=81.58$ mg/g

08 FAQ

- **检测得到的样本ΔA $_{测}$过高或者过低怎么办?**

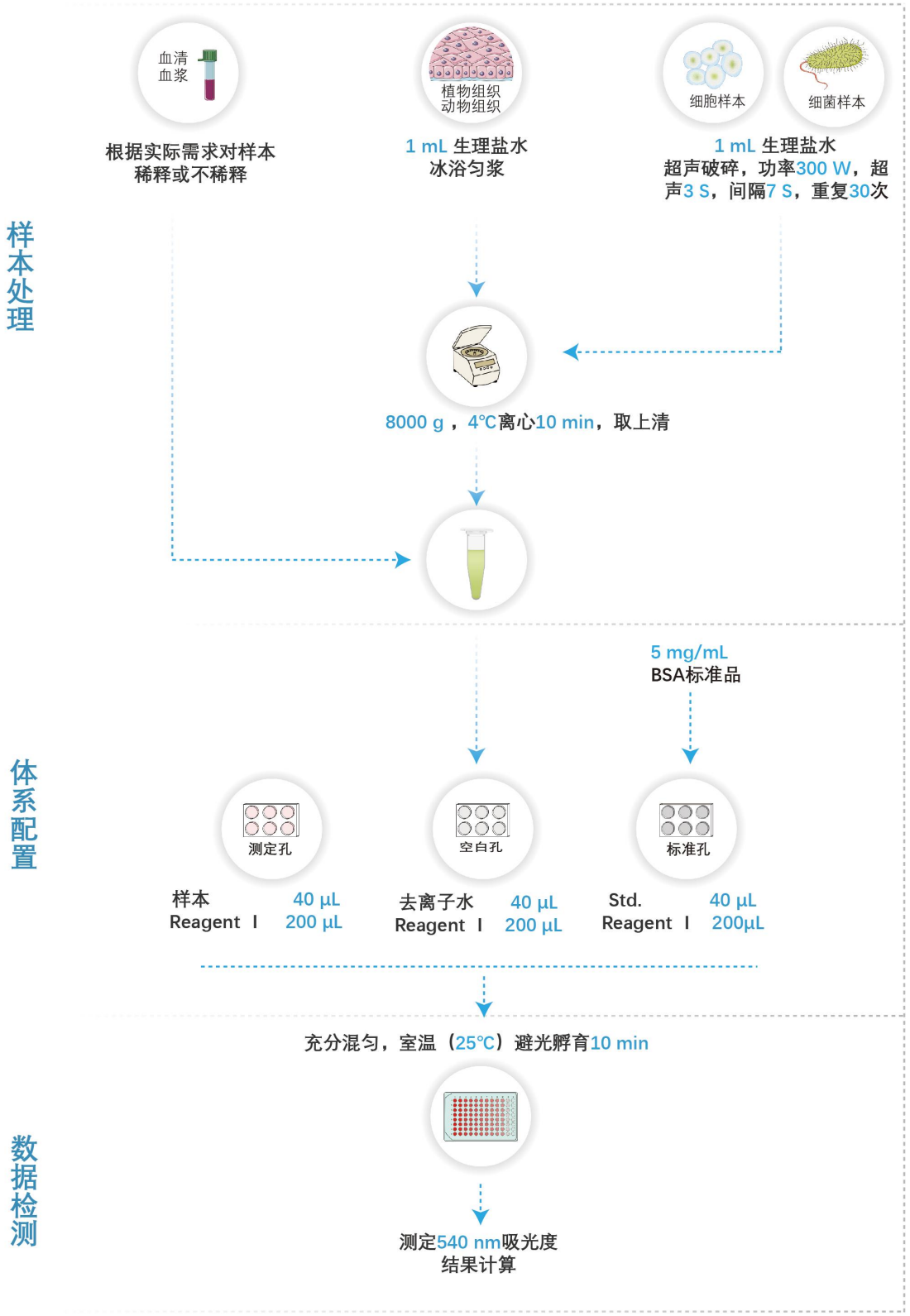
当样本的ΔA $_{测定}$小于 0.01，可适当增大样本量，如果ΔA $_{测定}$大于 0.3，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB2221	CheKine™ 白蛋白（Alb）含量检测试剂盒
KTB1410	CheKine™ 谷丙转氨酶（ALT/GPT）活性检测试剂盒
KTB1412	CheKine™ 总胆红素（TBIL）含量检测试剂盒
KTB1420	CheKine™ 谷草转氨酶（AST/GOT）活性检测试剂盒
KTB1413	CheKine™ 直接胆红素（DBIL）含量检测试剂盒

CheKine™ 总蛋白（TP）含量检测（双缩脲法）流程示意图

（Abbkine 货号：KTB2223）



V1.0