

## 脑脊液总蛋白检测试剂盒(染料结合比色法)

### 产品简介:

脑脊液(Cerebro-Spinal Fluid, CSF)是存在于脑室、蛛网膜下腔和脊髓中央管内的无色透明液体,由脑室中的脉络丛产生,与血浆和淋巴液的性质相似,正常成年人的脑脊液约100~150ml,弱碱性,不含红细胞;正常脑脊液具有一定的化学成分和压力,对维持颅压的相对稳定有重要作用,当中枢神经系统受损时,脑脊液的检测成为重要的辅助诊断手段。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。

Leagene 脑脊液总蛋白检测试剂盒(染料结合比色法)其检测原理是在酸性条件下,伊红解离成阴离子型,染料颜色逐渐褪去,使试剂空白吸光度降低;蛋白质多肽中的精氨酸、组氨酸、赖氨酸、色氨酸残基解离成带有 $-NH^{3+}$ 基团,与伊红结合成红色蛋白复合物,其吸光度与蛋白浓度呈比例,与同样处理的标准液比较,测得样本中蛋白质的含量,可用于人或动物脑脊液样本中的总蛋白含量测定。该试剂盒仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成:

名称		编号	TC0603	Storage
			100T	
试剂(A): TP 显色液	A1: Eosin Solution		2ml	RT
	A2: Acidic Buffer		2ml	RT
	A3: Eosin Buffer		200ml	RT
临用前,按 A1: A2: A3=1: 1: 98 的比例混合,即为 TP 显色液。				
试剂(B): TP Acidic Buffer			7ml	4°C
试剂(C): 蛋白标准			20mg	RT
试剂(D): 蛋白标准配制液			5ml	RT
使用说明书			1 份	

### 自备材料:

- 1、离心管、小试管、比色杯、分光光度计

### 操作步骤(仅供参考):

- 1、取 1ml 蛋白标准配制液或稀释液加入到蛋白标准中,充分溶解后配制成 20mg/ml 的蛋

白标准溶液, 配制后可立即使用, 溶解后的蛋白标准溶液应-20°C保存。取适量 20mg/ml 的蛋白标准溶液用蛋白标准配制液或稀释液继续进行稀释至 0.7mg/ml, 特别提示: 待测蛋白溶解于什么样的稀释液中, 蛋白标准也宜溶解于什么样的稀释液中, 例如待测蛋白溶解于蔗糖中, 亦取蛋白标准溶解于蔗糖中, 一般也可以用 0.9%NaCl 或 PBS 作为稀释液。

- 2、TP 加样: 按照下表设置空白管、标准管、测定管, 溶液应按照顺序依次加入, 并注意避免产生气泡。如果样品浓度过高, 可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定, 样品的检测最好能设置平行管。

加入物(ml)	空白管	标准管	测定管
蛋白标准配制液	0.0325	—	—
蛋白标准溶液(0.7mg/ml)	—	0.0325	—
待检样品(脑脊液)	—	—	0.0325
TP Acidic Buffer	0.65	0.065	0.65
TP 显色液	1.95	1.95	1.95

- 3、TP 测定: 混匀, 室温孵育 10min, 比色杯光径 1cm, 分光光度计测定 540nm 处的吸光度, 以空白管调零, 读取标准管、测定管的吸光度(即为  $A_{\text{标准}}$  和  $A_{\text{测定}}$ )。

**计算:** 脑脊液总蛋白(mg/L) =  $A_{\text{测定}} / A_{\text{标准}} \times 700\text{mg/L}$

#### 注意事项:

- 1、蛋白标准粉末溶解于蛋白标准配制液后, 即获得蛋白标准原液, 该原液中含有防腐剂, 不影响后续检测, 该蛋白标准原液-20°C长期保存。
- 2、如果没有分光光度计, 也可以使用酶标仪测定, 使用酶标仪测定蛋白浓度时, 每个试剂盒可以测定的样品数量可能会显著增加。
- 3、相同浓度的蛋白质, 白蛋白呈色稍强, 球蛋白稍低。
- 4、本方法线性范围可达 1000mg/L, 若 CSF 中蛋白含量过高, 常规检查时潘氏实验达(2+)者, 测定时 CSF 用量应适量减少, 计算时应相应修正。
- 5、本方法加入试剂后 1~5min 内呈进行性缓慢下降, 10~30min 趋于平稳, 可稳定 1~2h。
- 6、TP Acidic Buffer 加入量应准确, 边加边混匀, 否则影响结果。
- 7、试剂开封后请尽快使用, 以防影响后续实验效果。

**有效期:** 6 个月有效; 室温运输, 按要求保存。