

脑脊液总蛋白检测试剂盒(染料结合微板法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

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。

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-NH₃⁺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		规格	保存条件
脑脊液总蛋白检测试剂盒(染料结合微板法)		100T	4℃避光
试剂(A):	A1:EosinSolution	0.3ml	RT 避光
TP 显色液	A2:AcidicBuffer	0.3ml	RT
	A3:EosinBuffer	25ml	RT
使用前,按 A1:A2:A3=1:1:98 的比例混合,即为 TP 显色液。			
试剂(B):TPAcidicBuffer		1ml	RT
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	
有效		1 年	

自备材料:

- 1、96 孔板
- 2、酶标仪

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℃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: 按照下表设置系列孔，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孔。

加入物(μl)	空白孔	标准孔	测定孔
蛋白标准配制液	4	—	—
蛋白标准溶液(0.7mg/ml)	—	4	—
待检样品(脑脊液)	—	—	4
TPAcidicBuffer	8	8	8
TP 显色液	240	240	240

3、TP 测定: 混匀,室温孵育 10min, 酶标仪测定 540nm 处的吸光度, 以空白孔调零, 读取标准孔、测定孔的吸光度(即为 A 标准和 A 测定)。

计算: 脑脊液总蛋白(mg/L)=A 测定/A 标准×700mg/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℃长期保存。
- 2、如果没有酶标仪，也可以使用分光光度计测定，使用分光光度计测定蛋白浓度时，每个试剂盒可以测定的样品数量可能会显著减少。
- 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、TPAcidicBuffer 加入量应准确，边加边混匀，否则影响结果。

