

## LabAssay™ Total Protein

Please, read this instruction carefully before use.

### 1. Intended use

This product is a research-use reagent designed for the quantification of total protein using the Biuret method.

Total protein is mainly composed of albumin and globulin. These proteins play important roles in maintaining osmotic pressure and transporting substances within the body. Abnormal levels of total protein can indicate pathological conditions such as liver disease, kidney disease, and chronic inflammation.

When used in conjunction with albumin concentration data, the albumin-to-globulin (A/G) ratio can also be calculated. The A/G ratio is regarded as a useful diagnostic indicator for liver and kidney disorders, nutritional deficiencies, multiple myeloma, and chronic inflammatory diseases. Therefore, total protein and albumin are often measured together.

### 2. Storage and expiration date

Store at 2°C - 10°C and do not freeze.

Store the reconstituted standard at -35°C or below.

The expiration date is indicated on the label on the outer box of the kit.

### 3. Kit Component Reagents

Components		Use Status	Amount
(1)	Chromogen Reagent	Solution	65 mL/1 bottle
(2)	Standard	Freeze-dried	1 bottle

\* For 250 tests

### 4. Principle of the method

When the Chromogen Reagent is added to the sample, proteins form a coordination complex with copper ions and develop a blue-violet color. The total protein concentration in the sample is determined by measuring the absorbance of this blue-violet color (Biuret method).

### 5. Equipment or supplies required but not provided in the kit

- 96-well microplate (transparent type)
- Micropipette
- Microtube
- Pipette
- Plate mixer
- Microplate reader with 540 nm wavelength filter

### 6. Preparation of reagents

① Chromogen Reagent : Ready to use. After opening the bottle, store at 2°C - 10°C.

② Standard : Reconstitute ALT Standard with purified water in the amount specified in "Reconstitution of standard" \* to prepare the original standard solution (8.0 g/dL). Then prepare a dilution series using water that has been allowed to warm up to room temperature.

\* Use purified water equilibrated to room temperature to dissolve the standard.

\* Add the specified volume of purified water and allow the solution to stand at room temperature for 10 minutes. Then mix using a roller mixer or an equivalent device until completely dissolved.

\* Standard solutions diluted to each concentration should be used immediately and must not be stored.

Example of preparation of dilution series of standard solution

Standard Concentration (g/dL)	11.9	8.0	4.0	2.0	1.0	0.0
Standard Solution (μL)	Original standard solution : 50	Original standard solution : 50	Original standard solution : 50	50 *	50 *	—
Water (μL)	—	—	50	50	50	50
Well Volume (μL)	7.5**	5	5	5	5	5

\*One rank higher standard solution.

\*\* : The standard solution is typically dispensed at 5 μL per well ; however, 7.5 μL is used for the 11.9 g/dL standard. Accordingly, the displayed value has been corrected to account for the increased volume.

## 7. Preparation of specimen

### Serum/Plasma

- Analyze specimens immediately after collection.
- The anticoagulant heparin, EDTA · 2Na and citrate does not significantly influence the assay when used in normal amounts.
- Serum samples with a high degree of hemolysis may affect the measurement results. In such cases, collecting the blood sample again is recommended or the results should be used for reference only.
- Chyle and ascorbic acid affect the measured values.
- High levels of bilirubin in the specimen may affect the measured values.
- If the measured value exceeds the measurable range, dilute the sample with saline solution before measurement. Multiply the result by the dilution factor.

## 8. Assay procedure

Ensure that the reagents are brought up to room temperature (20°C - 25°C) before use.

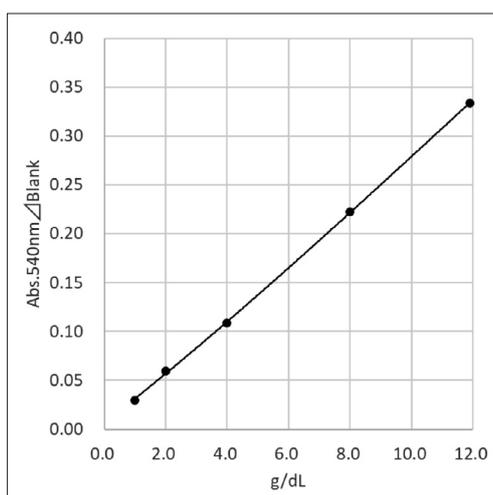
- (1) Dispense 250  $\mu$ L of Substrate-Enzyme Solution into each well of a 96-well microplate.
  - (2) Dispense 5  $\mu$ L of each concentration of standard solution into the well in which the standard is to be measured.  
(Dispense the 11.9 g/dL standard at the volume specified in the standard dilution example.)
  - (3) Dispense 5  $\mu$ L of sample into the well in which the sample is to be measured.
  - (4) Shake the 96-well microplate on a plate mixer (\*①).
  - (5) Allow to react at room temperature at 20°C - 25°C for 30 minutes.
  - (6) Immediately after reaction, measure the absorbance of each well at 540 nm using a spectrophotometer for microplates.
- (\*①) Guideline for shaking : 600 rpm - 700 rpm for 10 seconds, repeated 3 times.

## 9. Calculation

- (1) Create a calibration curve for each measurement, with the standard concentration (g/dL) on the X-axis and absorbance on the Y-axis.
  - (2) From the calibration curve, read the total protein (g/dL) corresponding to the absorbance of the sample. If a diluted sample is used, the concentration reading is multiplied by the sample dilution ratio to obtain the measurement value.
- \*If the absorbance of a sample is outside the standard curve, dilute the sample with saline to an appropriate dilution ratio and repeat the assay.
- \*In computer software calculations, we recommend using 4 parameters or 5 parameters.

## 10. Standard Curve

- Measurement range : 1.0 - 11.9 g/dL



## 11. Performance

### ● Accuracy

- When control serum of known concentration is measured, the measured value is within  $\pm 15.0\%$  of the known concentration.

### ● Repeatability

- When the same sample is measured simultaneously 5 times, the CV (%) of measured values is 15.0% or less.

## Notes

- Avoid using this product at temperatures or reaction times other than those specified.
- The color development is stable, and the absorbance shows almost no change even after standing at room temperature for 1 hour.

- If any reagent accidentally comes into contact with the mouth, eyes, or skin, flush immediately with a large amount of water. Consult a physician if necessary.
- When using a pipette, do not aspirate by mouth; always use a safety pipette filler or equivalent device.
- Store reagents under the specified conditions and do not use expired reagents.
- Do not use reagents that have been accidentally frozen because accurate results may not be obtained.
- After opening, use the reagent as soon as possible. If it is stored, close the lid and store under the specified conditions.
- Do not use the container or accessories included with this product for anything other than their intended purposes.
- Handle samples being cognizant of the risk of infection (e.g., viruses).
- Wear disposable gloves to avoid the risk of infection when performing a test.
- Be careful regarding contamination when collecting reagents with a pipette.
- Do not mix and use reagents with different lot numbers.
- When disposing of the reagents, dispose of them according to Waste Management and Public Cleansing Law (Waste Disposal and Cleaning Act) and wastewater standards. The chromogenic solution contains copper (II) sulfate pentahydrate at 3 g/dL (equivalent to 760 mg/L as copper).
- Any reagent or reagent bottle that comes into contact with a specimen should be considered potentially infectious and handled accordingly.
- Any scattering/splashes of samples or waste fluids should be removed with a disinfectant such as sodium hypochlorite (effective chlorine concentration 1,000 ppm).

LabAssay™ Total Protein

[Storage] Store at 2°C - 10°C (Do not freeze)

[Term of validity] Indicated on the label.

[Package] For 250 tests

[Cat #] 295-98801

---

**FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation**

1-2, Doshomachi 3-Chome, Chuo-Ku, Osaka 540-8605, Japan  
 Telephone : +81-6-6203-3741  
 Facsimile : +81-6-6201-5964  
<http://fwk.fujifilm.co.jp>

Group Companies



Distributors



本品は研究用試薬です。体外診断用として使用できません。

コードNo. 295-98801 (250回用)

## ラボアッセイ™ 総タンパク質

### 1. はじめに

本製品は、ビウレット法を用いた総タンパク質（総蛋白）を測定する研究用試薬です。

総タンパク質は主にアルブミンとグロブリンから構成され、生体の浸透圧調整や物質の運搬に関係します。総タンパク質の異常値は、肝疾患や腎疾患、慢性炎症の病態を示す指標として利用されます。

アルブミン濃度の測定値と組み合わせることで、アルブミン・グロブリン比（A/G比）を算出可能です。A/G比は肝疾患、腎疾患、栄養障害、多発性骨髄腫、慢性炎症疾患などの診断指標として有用であるとされており、一般的に総タンパク質とアルブミンを一緒に測定することが多くみられます。

### 2. キットの保存と使用期限

2℃～10℃で保存し、凍結させないで下さい。

標準品の溶解後は、冷凍保存（-35℃以下）して下さい。

使用期限はキット外箱のラベルに記載しています。

### 3. キット構成試薬

	構成試薬	状態	容量
(1)	発色試液	液体	65mL/1本
(2)	標準品	凍結乾燥品	1本

※ 250回テスト用

### 4. 測定原理

試料に総タンパク発色試液を作用させると、試料中のタンパクは銅イオンと錯塩を形成して青紫色を呈します。この青紫色の吸光度を測定することにより試料中の総タンパク濃度を求めます（ビウレット法）。

### 5. キット以外に必要な器具・器材

- ・ 96 ウェルの透明マイクロプレート
- ・ マイクロピペット
- ・ マイクロチューブ
- ・ ピペット
- ・ マイクロプレート振とう器（プレートミキサー）
- ・ マイクロプレートリーダー（540nm 吸光フィルター）

### 6. 試薬の調製法

①発色試液：そのまま使用して下さい。開封後は2℃～10℃で保存して下さい。

②標準品：標準品に精製水を「標準品原液の調製について」に記載の指定量\*を加え溶解し、標準品原液（8.0g/dL）を調製して下さい。その後、室温化された精製水で調製して下さい。

残った標準品は凍結保存して下さい。

\*標準品の溶解は室温化された精製水を使用して下さい。

\*精製水を指定量添加し、室温で10分間静置させて下さい。その後ローリングミキサーなどで溶解させて下さい。

\*各濃度に調製した標準液は、直ちに使用し、保存はしないで下さい。

標準液の希釈例

標準品濃度 (g/dL)	11.9	8.0	4.0	2.0	1.0	0.0
標準液 (μL)	原液 : 50	原液 : 50	原液 : 50	50*	50*	—
精製水 (μL)	—	—	50	50	50	50
ウェル分注量 (μL)	7.5**	5	5	5	5	5

\* : ひとつ高濃度の標準溶液

\*\* : 標準液のウェル分注量は通常5μLですが、11.9g/dLは7.5μLを使用します。そのため、液量が増加しますので補正した値です。

## 7. 検体の調製

### 血清／血漿検体

- ・採取後の検体は速やかに測定して下さい。
- ・抗凝固剤のEDTA・2Na、ヘパリン、クエン酸塩は通常の使用量では測定値に影響を与えません。
- ・溶血度の高い血清の場合は測定値に影響を与える可能性があります。採血しなおすか、または参考値程度にとどめて下さい。
- ・乳び、アスコルビン酸は測定値に影響を与えます。
- ・検体中のビリルビンが高い場合は測定値に影響を与える可能性があります。
- ・測定範囲の上限を超える検体については、検体を生理食塩水で希釈して測定して下さい。得られた値に希釈倍数を乗じたものが測定値となります。

## 8. 測定操作法

試薬類を十分に室温（20℃～25℃）に戻してからご使用下さい。

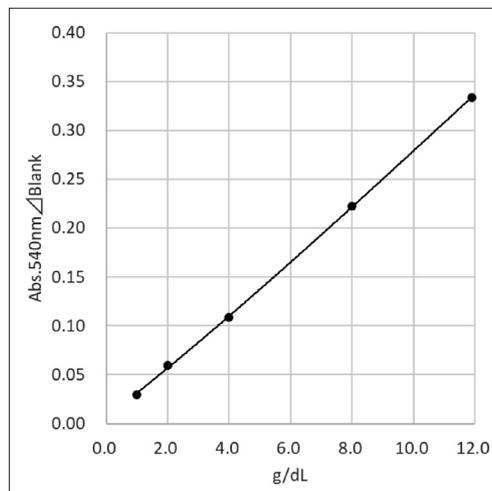
- (1) マイクロプレートに発色試液を250μLずつ分注します。
  - (2) 標準品測定ウェルに各濃度の標準液を5μLずつ分注します。  
(11.9g/dLは標準液の希釈例に記載されている試料採取量を分注します。)
  - (3) 検体測定ウェルに検体を5μLずつ分注します。
  - (4) マイクロプレート振とう器などを用いて、攪拌（\*①）します。
  - (5) 室温（20℃～25℃）、30分間反応させます。
  - (6) 反応後、直ちにマイクロプレート用分光光度計で540nmの吸光度を測定します。
- （\*①）攪拌の目安は600rpm～700rpm-10秒間、3回

## 9. 計算

- (1) 測定ごとに標準曲線を作成します。X軸に標準品濃度（g/dL）、Y軸に吸光度の標準曲線グラフを作成して下さい。
  - (2) 標準曲線より、検体の吸光度に対応する総タンパク質（g/dL）を読み取ります。希釈した検体を使用した場合は読み取った濃度に検体希釈率を乗じ測定値とします。
- \*検体の吸光度が標準曲線吸光度より外れた場合は、生理食塩水で適当倍率に調製し、再度測定を実施して下さい。  
\*コンピュータソフトでの演算処理では、4または5パラメーターの使用をお勧め致します。

## 10. 標準曲線

- ・測定範囲：1.0～11.9g/dL



## 11. キットの性能

### ●正確性

- ・既知濃度の管理用血清を測定するとき、既知濃度の±15.0%以内です。

### ●同時再現性

- ・同一検体を5回同時に測定する時、測定値のCV（%）は15.0%以下です。

## 注意事項

- ・指定された反応温度、反応時間以外での使用は避けて下さい。
- ・呈色は安定で室内温度放置1時間後も吸光度にほとんど変化はありません。
- ・試薬が誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合には直ちに大量の水で洗い流し、必要があれば医師の手当等を受けて下さい。
- ・ピペットをご使用の際は直接口で吸わないよう、必ず安全ピペッター等を使用して下さい。
- ・試薬は指定された条件で保管し、使用期限の過ぎたものは使用しないで下さい。

- ・誤って凍結させた試薬は使用しないで下さい。正しい結果が得られないことがあります。
- ・試薬の開封後はなるべく早く使用し、保存する場合は蓋を閉めて指定の条件で測定して下さい。
- ・本品中の容器、付属品は他の目的に転用しないで下さい。
- ・検体はウイルス等の感染の危険性を考慮して取り扱って下さい。
- ・検査にあたって感染の危険を避けるため、使い捨て手袋を着用して下さい。
- ・試薬採取の際、ピペットからの汚染に注意して下さい。
- ・ロット番号の違う試薬とは混ぜて使わないで下さい。
- ・廃棄に際しては廃棄物の処理および清掃に関する法律（廃棄物処理法）および排水基準に従って適切に処理して下さい。発色試液中に硫酸銅五水和物を 3g/dL（銅として 760mg/L）含有しています。
- ・検体と接触した試薬および試薬容器とは、感染の危険性があるものとして処理して下さい。
- ・検体、廃液等が飛散した場合には、次亜塩素酸ナトリウム等の消毒液を用いて拭き取って下さい。

【測定名】

【所属】

【測定者】

【測定日】

【ロット番号】

【使用期限】

【備考】

【製品名】	ラボアッセイ <sup>TM</sup> 総タンパク質
【和光コード】	295-98801
【英語表記】	Lab Assay <sup>TM</sup> Total Protein
【貯法】	2℃～10℃ 保存
【使用期限】	ラベルに記載
【包装】	250 回用

製造発売元

**富士フイルム 和光純薬株式会社**  
 大阪府中央区道修町三丁目1番2号  
 Tel : 06-6203-3741