

白蛋白检测试剂盒(溴甲酚紫微板法)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：

总蛋白(Total Protein, TP)由白蛋白和球蛋白组成，检测白蛋白的方法有双缩脲法、色氨酸法、染料结合法，其中检测白蛋白的染料结合法可采用溴甲酚绿或溴甲酚紫染料结合，上述染料对白蛋白具有高度的亲和力，通常监测染料与白蛋白结合的初速率，该速率与样品中白蛋白浓度成正比。

白蛋白检测试剂盒(溴甲酚紫微板法)检测原理是在酸性环境下，白蛋白分子带正电荷，与带负电荷的溴甲酚紫(Bromocresol purple, BCP)结合生成绿色复合物，在 603nm 处有吸收波，该复合物的吸光度与白蛋白浓度成正比，与同样处理的白蛋白标准比较，求得待测样品中白蛋白浓度，可用于人或动物血清、血浆、组织等样本中的蛋白含量测定，该法操作简单、方法特异，既可手工操作，又可采用自动分析仪检测，对血清清蛋白的特异性比 BCG 法(溴甲酚绿法)要好，不易受时间和温度变化的影响。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
白蛋白检测试剂盒(溴甲酚紫微板法)	100T	4℃避光
试剂(A):BCP 贮存液	0.1ml	4℃避光
试剂(B):白蛋白标准	20mg	RT
试剂(C):白蛋白标准配制液	10ml	RT
试剂(D):BCP 空白试剂	30ml	RT
使用说明书	1 份	
有效期	6 个月	

自备材料：

- 1、离心管、小试管
- 2、96 孔板、酶标仪

操作步骤(仅供参考)：

- 1、取 0.5ml 白蛋白标准配制液或稀释液加入到白蛋白标准(20mg)，充分溶解后配制成 40mg/ml 白蛋白标准溶液，配制后可立即使用，溶解后的白蛋白标准溶液应-20℃保存；特

别提示：待测蛋白溶解于什么样的稀释液中，白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，亦取白蛋白标准溶解于蔗糖，一般也可以用 0.9%NaCl 或 PBS 作为溶解白蛋白标准品的稀释液。

2、样本处理：血清、血浆样本直接取 5 μ l 检测，对于组织样本，按组织质量(g)：生理盐水(ml)=1：9 比例，加入 9 倍体积的生理盐水或 PBS，冰浴下匀浆后，2500g 离心 10min，取 5 μ l 上清待检。

3、配制 BCP 试剂：按 0.1mlBCP 贮存液入 100mlBCP 空白试剂混合即可，混合后应 4℃避光保存，1 个月有效。

4、白蛋白加样：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(μ l)	空白孔	标准孔	测定孔
白蛋白标准配制液	5	—	—
白蛋白标准溶液(40mg/ml)	—	5	—
待检样品(血清、血浆、组织匀浆液)	—	—	5
BCG 试剂	250	250	250

5、白蛋白测定：顺序加入 BCP 试剂，并立即混匀，室温放置(30 $\pm$ 3)s，以空白孔调零，酶标仪 603nm 处测定标准孔、测定孔的吸光度(即为 A 标准、A 测定)。

6、(备选步骤)当遇到脂血混浊，可设“样本空白孔”：取 5 μ l 待测样品加入 250 μ lBCP 空白试剂，以 BCP 空白试剂调零，读取“样本空白孔”吸光度，用测定孔吸光度减去样本空白孔吸光度后的净吸光度，计算白蛋白浓度。

计算：白蛋白(g/L)=A 测定/A 标准 $\times$ 白蛋白标准液浓度(g/L)

参考区间：

健康成年人	34~46g/L
-------	----------

注意事项：

1、白蛋白标准粉末溶解于白蛋白标准配制液后，即获得白蛋白标准原液，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、本法线性范围是 10~50g/L，在 10~40g/L 呈良好线性范围。

4、CV 可达 0.45%，回收率可达 99.3%~102%，平均回收率达 100.5%。

5、该法测定正常样本的批间变异系数为 6.3%。

6、经测定白蛋白标准溶液(40mg/ml)其吸光度减去空白吸光度差值在 0.35~0.5 之间；如果样品浓度过低，可能导致测定管吸光度与标准管吸光度之间差异不大，其避免方法为：增加标

准品和(或)待测样品的量以提高差异性,可使标准品和(或)待测样品从 10 μ l 增加至 50 μ l 之间的量。其计算公式应调整为: 白蛋白(g/L)=A 测定/A 标准 $\times$ 白蛋白标准液浓度(g/L) $\times$ (10/实际加入样品微升数)。

附录: 参考标准曲线图, 测定白蛋白标准溶液(40mg/ml)其吸光度减去空白吸光度差值在 0.35~0.5 之间; 如果样品浓度过低, 可能导致测定管吸光度与标准管吸光度之间差异不大; 测定白蛋白标准溶液的浓度依次为 4、8、16、24、32、40mg/ml, 测出其相应的吸光度, 据此做出如下标准曲线。

