

白蛋白含量检测试剂盒(溴甲酚紫显色法)

中文名称：白蛋白含量检测试剂盒(溴甲酚紫显色法)

英文名称：Albumin Content Assay Kit (Bromocresol Purple Colorimetry)

产品包装：盒装

产品规格：100T/96S

储存条件：-20℃

检测方法：微量法

有效期：6个月

产品简介：白蛋白是人体血浆中最主要的蛋白质，由肝脏合成，是人体内一种重要的营养物质，可以维持血浆渗透压，并可与多种营养物质、激素和药物相结合。白蛋白含量可以反映机体营养状态，也可排查影响肝脏代谢功能的疾病，如肝硬化、肝损伤、营养不良、恶性肿瘤等。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 处有特定吸收峰，该复合物吸光值与白蛋白浓度成正比。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 110mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 0.12mL×1 支	2-8℃保存
试剂二	液体 25mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 0.3mL×1 支	2-8℃保存
标准品	液体 1×1 支	-20℃保存

溶液的配制:

1、显色液: 临用前根据样本数量按照试剂一: 试剂二: 试剂三=10 μ L: 3990 μ L :40 μ L (4040 μ L, 20T) 的比例 配制显色液, 充分混匀, 现配现用;

2、标准品: 10mg/mL 白蛋白标准液。临用前取 50 μ L 10mg/mL 白蛋白标准液, 加入 150 μ L 提取液, 配制成 2.5mg/mL 白蛋白标准液, 现配现用。

产品说明:

白蛋白是人体血浆中最主要的蛋白质,由肝脏合成, 是人体内一种重要的营养物质, 可以维持血浆渗透压, 并可与多种营养物质、激素和药物相结合。白蛋白含量可以反映机体营养状态, 也可排查影响肝脏代谢功能的疾病, 如肝硬化、肝损伤、营养不良、恶性肿瘤等。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 处有特定吸收峰, 该复合物吸光值与白蛋白浓度成正比。



注意: 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者 增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、分析天平、微量玻璃比色皿/96 孔板、可调式移液枪, 研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。

操作步骤:**一、样本处理**

1. 组织样本: 按质量 (g) : 提取液体积 (mL) 1 : 5~10 比例加入提取液 (建议称取 0.1g 样本, 加入 1.0mL 提取液), 冰浴匀浆后, 于 4 $^{\circ}$ C , 8000g, 离心 10min, 弃沉淀, 取上清液置于冰上待测。

2. 细菌/细胞样本：按细菌/细胞数量 (10⁶): 提取液体积 (mL) 5~10: 1 的比例加入提取液(建议 5 百万细菌/细胞加入 1.0mL 提取液)冰浴超声破碎细菌/细胞(功率 200W , 超声 3s, 间隔 7s,总时间 5min)然后于 4℃ , 8000g, 离心 10min, 弃沉淀, 取上清液置于冰上待测。

3. 液体样本：直接测定。若液体有浑浊则离心取上清测定。

二、测定步骤

1. 可见分光光度计/酶标仪预热 30min 以上,调节波长至 603nm,可见分光光度计蒸馏水调零。

2. 操作表：(微量玻璃比色皿/96 孔板中加入下列试剂)

试剂名称(μL)	测定管	标准管	空白管
样本	20	-	-
标准品	-	20	-
提取液	-	-	20
显色液	200	200	200

混匀, 常温静置 1min , 于 603nm 处测定各管吸光值, 分别记为 A 测定、A 标准和 A 空白, 计算 ΔA 测定=A 测定-A 空白, ΔA 标准=A 标准-A 空白。空白管和标准管只需测 1-2 次。
注意: 静置时间长短会影响检测结果, 建议直接在微量玻璃比色皿/96 孔板中直接反应 1min, 测定吸光值

三、白蛋白含量计算

1. 按样本蛋白浓度计算

白蛋白含量(mg/mg prot)= ΔA 测定 \times (C 标 \div ΔA 标准) $\times V$ 样 \div (V 样 $\times C$ pr)=2.5 $\times \Delta A$ 测定 $\div \Delta A$ 标准 $\div C$ pr

2. 按样本质量计算

白蛋白含量 (mg/g 质量) = ΔA 测定 \times (C 标 $\div \Delta A$ 标准) $\times V$ 样 \div ($W \times V$ 样 $\div V$ 样总) =2.5 $\times \Delta A$ 测定 $\div \Delta A$ 标准 $\div W$

3. 按细菌/细胞数量计算

白蛋白含量 (mg/10⁴cell) = ΔA 测定 \times (C 标 \div ΔA 标准) $\times V$ 样 \div (V 样 $\times N \div V$ 样总) = 2.5 $\times \Delta A$ 测定 $\div \Delta A$ 标准 $\div N$

4. 按液体体积计算

白蛋白含量(mg/mL) = ΔA 测定 \times (C 标 \div ΔA 标准) $\times V$ 样 $\div V$ 样 = 2.5 $\times \Delta A$ 测定 $\div \Delta A$ 标准

C 标: 标准管浓度, 2.5mg/mL; V 样: 加入样本体积, 0.02mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL;

Cpr: 样本 蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; N: 细菌/细胞总数, 以 10⁶计。

注意事项:

- 1、如果 ΔA 测定小于 0.005 或测定管吸光值接近空白管, 可以增加样本量后再进行测定; 如果 ΔA 测定大于 0.4, 建议将样本上清用提取液适当稀释后再进行测定。注意同步修改计算公式。
- 2、如果样本加入显色剂后出现浑浊, 建议将样本上清用提取液适当稀释后再进行测定。注意同步修改计算公式。

实验实例:

1. 取 20 μ L 人血清样本, 用提取液稀释 10 倍, 按照测定步骤操作, 用 96 孔板测得计算:

ΔA 测定 = A 测定 - 空白 = 0.371 - 0.117 = 0.254, ΔA 标准 = A 标准 - A 空白 = 0.28 - 0.117 = 0.163,

按液体体积计算得:

白蛋白含量 (mg/mL) = 2.5 $\times \Delta A$ 测定 $\div \Delta A$ 标准 $\times 10$ = 38.957 mg/mL。