

白蛋白含量检测试剂盒(溴甲酚绿显色法)

中文名称：白蛋白含量检测试剂盒(溴甲酚绿显色法)

英文名称：Albumin Content Assay Kit (Bromocresol Green 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 0.28mL×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	粉剂×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=10μL: 990μL:10μL (1010 μL , 5T) 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 200μL10mg/mL 白蛋白标准液，加入 200 μL 提取液，配制成 5mg/mL 白蛋白标准液，现配现用。

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。血清白蛋白在 pH4.2 的缓冲液中带正电荷，在有非离子型表面活性剂存在时，可与带负电荷的染料溴甲酚绿结合形成蓝绿色复合物，在波长 630nm 处有吸收峰，其颜色深浅与白蛋白浓度成正比例。



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(可适当调整待测样本量)

1. 组织样本：按质量 (g) : 提取液体积 (mL) 为 1 : 5~10 的比例加入提取液 (建议称取 0.1g 样本，加入 1.0mL 提取液)，冰浴匀浆后，于 4℃ , 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 (10^6) : 提取液体积 (mL) 为 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 630nm,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 20s, 于 630nm 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 20s, 测定吸光值

三、白蛋白含量计算

1. 按样本蛋白浓度计算

$$\text{白蛋白含量 (mg/mg prot)} = \Delta A_{\text{测定}} \times (C_{\text{标}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) = 5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}$$

2. 按样本质量计算

$$\text{白蛋白含量 (mg/g 质量)} = \Delta A_{\text{测定}} \times (C_{\text{标}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) = 5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$$

3. 按细菌/细胞数量计算

$$\text{白蛋白含量 (mg/10}^6\text{cell)} = \Delta A_{\text{测定}} \times (C_{\text{标}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times N \div V_{\text{样总}}) = 5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div N$$

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 $\div V$ 样总 = $5 \times \Delta A$ 测定 $\div \Delta A$ 标准

C 标: 标准管浓度, 5 mg/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 10^6 计。

注意事项:

1、如果 ΔA 测定小于 0.010 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 0.5, 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 = 0.426 - 0.124 = 0.302, ΔA 标准 = A 标准 - A 空白 = 0.406 - 0.124 = 0.282,

按液体体积计算得:

白蛋白含量 (mg/mL) = $5 \times \Delta A$ 测定 $\div \Delta A$ 标准 $\times 10$ (稀释倍数) = 53.546 mg/mL。