



白蛋白含量检测试剂盒(溴甲酚紫显色法)(微量法)

中文名称：**白蛋白含量检测试剂盒(溴甲酚紫显色法)(微量法)**

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=10μL: 3990μL :40μL(4040 μL, 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 50μL10mg/mL 白蛋白标准液， 加入 150μL 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℃ , 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)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 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。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

$$\text{白蛋白含量(mg/mg prot)} = \Delta A_{\text{测定}} \times (C_{\text{标}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) = 2.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}$$

2. 按样本质量计算

$$\text{白蛋白含量(mg/g 质量)} = \Delta A_{\text{测定}} \times (C_{\text{标}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) = 2.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$$

3. 按细菌/细胞数量计算

$$\text{白蛋白含量(mg/10}^4\text{cell)} = \Delta A_{\text{测定}} \times (C_{\text{标}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times N \div V_{\text{样总}}) = 2.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div N$$

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= $2.5 \times \Delta A$ 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 10^6 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。