

白蛋白检测试剂盒(BCG法)

产品编号	产品名称	包装
P0383S	白蛋白检测试剂盒(BCG法)	100次
P0383M	白蛋白检测试剂盒(BCG法)	500次

产品简介:

- 碧云天的白蛋白检测试剂盒(BCG法) (Albumin Assay Kit with BCG), 又称溴甲酚绿法白蛋白含量检测试剂盒(Albumin Assay Kit with Bromocresol Green, or BCG Albumin Assay Kit), 是一种基于白蛋白与显色试剂结合显色, 通过比色法, 快速地对人、小鼠、大鼠、牛等血清、血浆等样品中白蛋白浓度进行检测的试剂盒。
- 白蛋白是人体血液中含有最多, 也是最重要的蛋白质之一[1]。白蛋白在与肝细胞内质网结合的多聚核糖体中合成, 但不储存在肝脏中。在基础生理条件下, 只有20-30%的肝细胞产生白蛋白, 但在特定生理需求下, 白蛋白合成速率会激增至原有的2-3倍。健康人体内白蛋白约占血浆蛋白的50%, 其分子量为66kDa, 与其它血浆蛋白相比更小, 非常稳定; 具有高度水溶性, 分子形状呈椭圆形, 具有低粘度特性。白蛋白在人体内重要作用之一是维持血浆胶体渗透压, 正常参考范围为3.5-5g/dl (35-50mg/ml); 此外, 已有研究确定了白蛋白在血管内皮的稳态中起着关键作用, 并为糖萼(Glycocalyx)的炎症和损伤提供保护; 白蛋白还能结合多种化合物, 能运输、输送和清除药物, 有助于吸收、储存和处置潜在有害的生物分子; 白蛋白还有调节酸碱平衡、调节炎症、维持血管内皮完整性以及结合内源性和外源性化合物的作用[2]。
- 本试剂盒的检测原理为: 在酸性环境下, 白蛋白带正电, 与带负电的溴甲酚绿(Bromocresol Green, BCG)结合形成复合物, 颜色由黄色变为蓝绿色, 该复合物在628nm处有最大吸收峰, 其吸光度与白蛋白浓度成正比, 因此可用于对样品中白蛋白的浓度进行测定。本试剂盒检测特异性强, 不与其它的血浆蛋白如IgG发生反应。
- **本试剂盒检测范围宽(0.04-10g/dl), 使用简便。**不同样品中白蛋白的浓度可能处于较宽的范围。例如, 健康人体内白蛋白浓度通常为3.5-5g/dl; 而低白蛋白血症或高白蛋白血症的患者, 白蛋白浓度会低于3.5g/dl或高于5g/dl。本试剂盒覆盖的检测范围宽, 大部分样品无需稀释可以直接进行检测, 使用简单方便。试剂盒中提供牛血清白蛋白(Bovine Serum Albumin, BSA)作为标准品用于设置标准曲线(图1A、B)。若样品中白蛋白浓度较高, 可以参考图1A中进行完整标准曲线(0.15-10g/dl)的四参数拟合后计算样品中白蛋白浓度; 若样品中白蛋白浓度较低, 则可参考图1B (0.01-1.25g/dl), 取低浓度部分的检测数据进行线性拟合, 计算样品中白蛋白浓度。
- **本试剂盒检测灵敏度高,** 检测浓度下限达到0.04g/dl, 最小检测白蛋白量低至2 μ g。

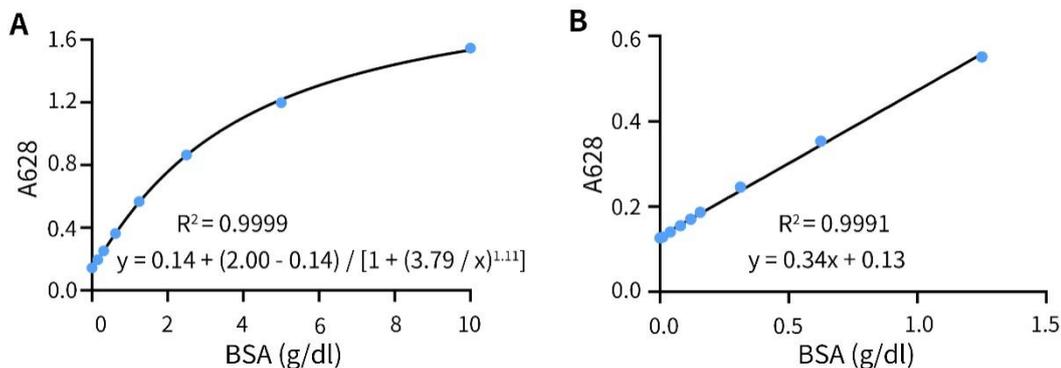


图1. 碧云天白蛋白检测试剂盒(BCG法) (P0383)检测BSA标准曲线的效果图。图A为全范围(0.15-10g/dl)的标准曲线, 并进行了四参数拟合。图B为低浓度(0.01-1.25g/dl)的标准曲线, 并进行了线性拟合。图中数据仅供参考, 实际的检测效果可能会因实验条件、检测仪器等的不同而略有不同。

- **本试剂盒检测速度极快。** 仅需在室温孵育1-10分钟, 即可测定吸光度。10-20个样品通常仅需不到10分钟即可完成检测。
- 按照使用说明操作, 用于96孔板检测时, 本试剂盒小包装和中包装分别可以进行100次和500次检测。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
P0383S-1	BCG Reagent A	15ml
P0383S-2	BCG Reagent B	5ml
P0383S-3	BSA Standard	30mg
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
P0383M-1	BCG Reagent A	75ml
P0383M-2	BCG Reagent B	25ml
P0383M-3	BSA Standard	30mg×2
—	说明书	1份

保存条件：

4°C保存，一年有效。BCG Reagent A和BCG Reagent B须避光保存。整个试剂盒-20°C可以保存更长时间。

注意事项：

- 蛋白标准请在全部溶解后先混匀，再稀释成一系列不同浓度的BSA标准溶液。
- 所有试剂须平衡至室温后再使用，使用完毕后应立即按照试剂盒要求的条件保存。
- 需可检测610-630nm之间波长的酶标仪一台，最佳检测波长为628nm。并需96孔板。如果没有酶标仪，也可以使用普通的分光光度计测定，但测定时，需根据比色皿的最小检测体积，适当加大BCG Reagent A和BCG Reagent B的用量使不小于最小检测体积，样品和标准品的用量可相应按比例放大也可不变。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。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 蛋白标准品的准备。

- 蛋白样品在什么溶液中，标准品也宜用什么溶液稀释。本产品推荐使用PBS (C0221A)或超纯水稀释标准品。向1管30mg的BSA Standard中加入300 μ l的PBS或超纯水，溶解并混匀后即得10g/dl (dl为分升，即0.1L)的BSA标准溶液(相当于100mg/ml)。BSA标准溶液须-20°C冻存，且须完全融化并混匀后再使用。
- 高浓度白蛋白检测标准曲线：按照下表配制0、0.15625、0.3125、0.625、1.25、2.5、5、10g/dl BSA标准溶液(A-H)。每次稀释时注意充分混匀。

Vial Number	Volume of Dilution Buffer	Volume of BSA Standard	Final Concentration
A	0 μ l	300 μ l BSA Standard (10g/dl)	10g/dl
B	35 μ l	35 μ l of Vial A	5g/dl
C	35 μ l	35 μ l of Vial B	2.5g/dl
D	35 μ l	35 μ l of Vial C	1.25g/dl
E	35 μ l	35 μ l of Vial D	0.625g/dl
F	35 μ l	35 μ l of Vial E	0.3125g/dl
G	35 μ l	35 μ l of Vial F	0.15625g/dl
H	35 μ l	0 μ l	0g/dl

- 低浓度白蛋白检测标准曲线：按照下表配制0、0.03906、0.078125、0.15625、0.3125、0.625、1.25g/dl BSA标准溶液(B-H)。每次稀释时注意充分混匀。

Vial Number	Volume of Dilution Buffer	Volume of BSA Standard	Final Concentration
A	0 μ l	300 μ l BSA Standard (10g/dl)	10g/dl
B	70 μ l	10 μ l of Vial A	1.25g/dl
C	35 μ l	35 μ l of Vial B	0.625g/dl
D	35 μ l	35 μ l of Vial C	0.3125g/dl
E	35 μ l	35 μ l of Vial D	0.15625g/dl
F	35 μ l	35 μ l of Vial E	0.078125g/dl
G	35 μ l	35 μ l of Vial F	0.03906g/dl
H	35 μ l	0 μ l	0g/dl

2. BCG工作液(BCG Working Solution)的配制。

每个样品检测需200 μ l BCG工作液，按照待检测样品(包括标准品)数量，按3体积BCG Reagent A加1体积BCG Reagent B (3:1)的比例配制适量BCG工作液，并充分混匀，使用时应注意现用现配。例如，3ml的BCG Reagent A加1ml的BCG Reagent B，混匀，配制成4ml的BCG工作液，可用于检测20个样品。

3. 白蛋白浓度测定。

- a. 取5 μ l不同浓度BSA标准溶液加到96孔板的标准品孔中。96孔板推荐使用碧云天的BeyoGold™ 96孔细胞培养板(FCP962)。
- b. 取5 μ l样品到96孔板的样品孔中。血清和血浆样品可以无需稀释直接检测。如果样品不足5 μ l, 需加PBS或超纯水补足到5 μ l。样品原体积记录为V μ l。
- c. 各孔加入200 μ l BCG工作液。用手轻轻晃动96孔板或使用微孔板振荡器混匀30秒或其它适当方法混匀。可以立即测定吸光度, 也可以室温放置(25 $^{\circ}$ C左右), 在30分钟内测定, 30分钟内检测数据无显著变化。微孔板振荡器推荐使用碧云天的BeyoVortex™数字式微孔板振荡器(E6839)。
- d. 用酶标仪测定A628, 或610-630nm之间的其它波长的吸光度。
- e. 根据标准曲线和使用的样品体积计算出样品中的白蛋白浓度B (g/dl)。如果加入样品为5 μ l, 则样品孔的蛋白浓度B即样品浓度; 如果加入样品不足5 μ l, 原体积记录为V μ l, 则样品浓度C (g/dl)=B \times 5/V。
注: BCG法测定蛋白质浓度, 完整标准曲线不是严格的直线形式(参考图1A)。建议拟合四参数曲线或二次多项式曲线, 或者选用其它比较合适的曲线进行拟合, 将提供比直线线性拟合更准确的结果。四参数拟合的方程为 $y=(A-D)/[1+(x/C)^B]+D$ (不同软件可能稍有区别), 二次多项式曲线拟合的方程为 $y=a+bx+cx^2$, 可以使用ELISA Calc、GraphPad Prism、Origin、Excel或其它比较合适的软件进行拟合。对于ELISA Calc, 选择回归/拟合模型(M)中的logistic曲线拟合2 (四参数)或者二次曲线回归进行拟合。对于GraphPad Prism、Origin或其它软件, 相对应的选择非线性拟合中的四参数或二次曲线进行拟合; 大部分可进行曲线拟合的软件通常可在拟合完成后同时根据输入的已知变量对未知变量进行求解, 不需要自行解高次方程(需根据软件使用说明进行确认)。例如, 未知样品孔的吸光度值通常作为已知数y代入, 软件会根据拟合方程求解出x, 作为对应样品孔的浓度。若仅需进行低浓度白蛋白检测, 可以选取低浓度在线性范围的数据拟合线性标准曲线(参考图1B)并完成相应计算。
- f. 计算示例(以四参数曲线为例):
样品原体积V=3 μ l, 加入样品孔中后再加2 μ l稀释液补足至5 μ l。参考以上步骤进行检测, 用标准品吸光度值对标准品浓度进行作图并拟合标准曲线, 得到标准曲线公式。例如, 图1A中的标准曲线拟合的公式为 $y=0.144+(2.0-0.14)/[1+(3.79/x)^{1.114}]$ 。如果检测的样品孔吸光度为0.845, 作为y代入图1A的标准曲线公式, 计算出的x即样品孔的蛋白浓度B (g/dl)=2.41g/dl (这一步通常可以由软件计算得出), 则样品中的蛋白浓度为C (g/dl)=2.41 \times 5/3=4.02g/dl。
- g. 白蛋白浓度的单位换算:
0.1g/dl=1mg/ml=15 μ M=0.1%=1000ppm

参考文献:

1. Bihari S, Bannard-Smith J, Bellomo R. Crit Care Resusc. 2020. 22(3):257-65.
2. Garcovich M, Zocco MA, Gasbarrini A. Blood Transfus. 2009. 7(4):268-77.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
P0006	Bradford蛋白浓度测定试剂盒	1000次
P0006C	Bradford蛋白浓度测定试剂盒(去垢剂兼容型)	800次
P0007	蛋白标准(5mg/ml BSA)	1ml
P0009	BCA蛋白浓度测定试剂盒(增强型)	5000次
P0010	BCA蛋白浓度测定试剂盒(增强型)	200次/500次
P0011	BCA蛋白浓度测定试剂盒	5000次
P0012	BCA蛋白浓度测定试剂盒	200次/500次
P0383	白蛋白检测试剂盒(BCG法)	100次/500次
P0398	BeyoBCA蛋白浓度快速测定试剂盒	200次/1000次/5000次
P0399	BeyoBCA蛋白浓度测定试剂盒(高灵敏度)	200次/1000次/5000次

Version 2024.11.20