

白蛋白含量检测试剂盒（溴甲酚紫显色法）说明书

微量法

货号：BC5825

规格：100T/96S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

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

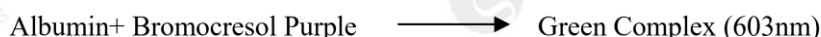
溶液的配制：

- 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（4040μL，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 50μL 10mg/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。**

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，具体比例可以参考文献）

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（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 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。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

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

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：

- 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。
- 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：

- 取20μL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： $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 0.371 - 0.117 = 0.254$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 0.28 - 0.117 = 0.163$ ，按液体体积计算得：
白蛋白含量 (mg/mL) = $2.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times 10 = 38.957 \text{ mg/mL}$ 。

相关发表文献：

- [1] Liu WB, Wang MM, Dai LY, Dong SH, Yuan XD, Yuan SL, Tang Y, Liu JH, Peng LY, Xiao YM. Enhanced Immune Response Improves Resistance to Cadmium Stress in Triploid Crucian Carp. Front Physiol. 2021 Jun 4;12:666363. doi: 10.3389/fphys.2021.666363. PMID: 34149447; PMCID: PMC8213368.



参考文献:

- [1] Tada S, Yasukawa K, Yatomi Y, et al. A simple colorimetric assay to determine the concentration and proportion of human mercaptalbumin[J]. Practical Laboratory Medicine, 2022, 31: e00281.
- [2] Muramoto Y, Matsushita M, Irino T. Reduction of reaction differences between human mercaptalbumin and human nonmercaptalbumin measured by the bromocresol purple method[J]. Clinica Chimica Acta, 1999, 289(1-2):69-78.

相关系列产品:

BC1270/BC1275 蛋白质羧基含量检测试剂盒
BC3180/BC3185 双缩脲法蛋白含量检测试剂盒

