白蛋白（ALB）含量检测试剂盒说明书

（货号：ADS-W-DB006　微板法 96 样　有效期：3 个月）

一、指标介绍：

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的复合物，在波长 630nm 处有吸收峰，其颜色深浅与白蛋白的浓度成正比。

二、试剂盒组分与配制：

试剂组分	试剂规格	存放温度
试剂一	液体 1mL×1 支	4℃避光保存
试剂二	液体 1mL×1 支	4℃避光保存
试剂三	液体 30mL×1 瓶	4℃保存
标准品	液体 1mL×1 支	-20℃保存

三、实验器材：

研钵（匀浆机）、天平、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

四、指标测定：

① 组织样本：

取约 0.1g 组织，加入 1mL 生理盐水，进行冰浴匀浆。4℃×12000rpm 离心 5min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：生理盐水体积(mL)为 1：5~10 的比例进行提取。

② 液体样本：澄清的液体可直接检测；若浑浊则离心后取上清液检测。

③ 细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 生理盐水，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000rpm 4℃离心 5min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量（10^4）：生理盐水(mL)为 500~1000：1 的比例进行提取。

2、检测步骤：

① 打开酶标仪，设置温度 25℃（若仪器无法控温，则等待仪器过自检程序即可），设定波长到 630nm。

② 所有试剂解冻至室温，按照试剂一：试剂二：试剂三 3:1:76 混合成工作液待用（工作液现配现用，若变绿色则不能再使用）

试剂（μL）	测定管	空白管（仅做一次）	标准管（仅做一次）
样本	10		
蒸馏水		10	
标准品			10
工作液	200	200	200
混匀，置室温（25℃）反应 10min（**准确时间**），**立即**于 630nm 读取吸光值 A，△A=A 测定-A 空白。			

【注】：测定管的 A 值若超过 1，可把样本再进行稀释，稀释倍数 D 代入计算公式。

五、结果计算：

1、按组织质量计算：

白蛋白含量(mg/g)=(C 标准×V2)×(A $_{测定}$-A $_{空白}$)÷(A $_{标准}$-A $_{空}$)÷(V1÷V×W)×D

=35×△A÷(A $_{标准}$-A $_{空}$)÷W×D

2、按蛋白浓度计算：

白蛋白含量（mg/mg prot)=(C 标准×V2)×(A $_{测定}$-A $_{空白}$)÷(A $_{标准}$-A $_{空}$)÷(V1÷V×Cpr)×D

=35×△A÷(A $_{标准}$-A $_{空}$)÷Cpr×D

3、按照体积计算：

白蛋白含量(mg/ml)=(C 标准×V2)×(A $_{测定}$-A $_{空白}$)÷(A $_{标准}$-A $_{空}$)÷V1×D

=35×△A÷(A $_{标准}$-A $_{空}$)×D

4 按细胞数量计算：

白蛋白含量(mg/10^4 cell)=(C 标准×V2)×(A $_{测定}$-A $_{空白}$)÷(A $_{标准}$-A $_{空}$)÷(500×V1÷V)×D

=0.007×△A÷(A $_{标准}$-A $_{空}$)×D

C 标准---标品浓度，35g/L=35mg/ml；　　V1---加入样本体积，0.01mL；

V2---加入标准品体积，0.01mL；　　D--稀释倍数，未稀释即为 1。

V---生理盐水体积，1mL　　W---样本取样质量，g

500---细菌/细胞数量，万

Cpr---上清液蛋白浓度，mg/mL，建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒