

定量检测牛血清白蛋白（BSA）ELISA 试剂盒（Bt0123-1811） 说明书

试剂盒适用范围：

本试剂盒用于生物制品中牛血清白蛋白（Bovine serum albumin, BSA）的定量检测。仅用于研究和生产检测使用，不用于临床诊断。

试剂盒原理：

应用双抗体夹心免疫分析法，微孔板中预先包被有抗 BSA 单克隆抗体，和样品中的 BSA，HRP 标记的抗 BSA 检测抗体形成“包被抗体-BSA-酶标记抗体”夹心复合物，加入 TMB 底物液与 HRP 发生酶促反应，生产带颜色的反应产物，颜色深浅与样品中 BSA 含量成正比。使用酶标仪在特定波长下读取吸光值，对标准溶液浓度和吸光值进行线性回归拟合，得到回归方程，将样品的吸光值代入回归方程 y 值，求得 x 值，经样品稀释倍数校正，即可得出样品 BSA 的含量。

提供的试剂与材料：

名称	规格	数量
抗 BSA 单抗包被板	96/48 孔	1 块
HRP 标记抗体	0.14 mL	1 瓶
HRP 标记抗体稀释液	14 mL	1 瓶
10X 洗液（样品稀释液）	200 mL	1 瓶
BSA 标准溶液	1 mL	1 瓶/浓度
BSA 内部参比	1 mL	1 瓶
TMB 底物液	6.5 mL	1 瓶
终止液	6.5 mL	1 瓶
7#自封袋	8/4 个	1 份
说明书	-	1 份

BSA 标准溶液浓度为 0、2.5、5、10、20、40 ng/ mL

BSA 内部参比浓度为 30 ng/ mL

用户自备的设备与材料：

1. 酶标仪 450 nm 和 630 nm
2. 25 °C 水浴锅或孵箱（室温低时可选配）
3. 微量移液器：单道 50 μ L 和 100 μ L、多道 300 μ L
4. 带滤芯移液头
5. 2L 样品瓶
6. 超纯水或注射用水

试剂盒性能：

1. 定量范围 2.5ng/ mL -40 ng/ mL，检测限 0.25ng/ml。

2. 标准溶液拟合回算浓度相对误差 (%RE) 在±10%之间。
3. 决定系数 R^2 大于 0.99。
4. 以其它来源 BSA 为样品测试, 准确度在±10%之内。
5. 批内批间精密度在±10%之内。
6. 与人血清白蛋白 (HSA) 无交叉反应。

试剂盒操作:

操作注意事项:

1. 孵育条件为室温, 如室温低于 20℃时可以使用水浴或孵箱。
2. 每步孵育必须避光进行, 同时使用提供的自封袋或者自备封板膜封板, 避免孔内液体蒸发。
3. 移液器及枪头、稀释洗液用 2L 瓶应无 BSA 污染, 建议配备一套专用, 实验室环境应无 BSA 污染。
4. 使用移液器加液时, 第一步加标准溶液和样品, 移液头尖端应置于板孔内部悬加, 勿碰触孔壁, 加其余步骤的液体时, 移液头尖端在板孔上方悬加, 勿接触孔壁。
5. 吸液时最大吸液量要低于滤芯位置, 避免吸取液体接触滤芯带来污染。
6. 未使用完的试剂盒组分放回 2-8℃保存, 包被板放回包装袋内并且用自封袋封口。
7. 样品应不含叠氮化钠(NaN_3), 会抑制 HRP 的活性。如需使用, 预先进行溶液置换。

操作准备:

1. 将试剂盒中所有试剂及包被板取出至实验桌面回温 30 分钟。
2. 稀释 10X 洗液 (样品稀释液), 稀释前摇匀, 观察如有结晶, 在不超过 37℃水浴中溶解, 用 1800 毫升超纯水或注射用水稀释至工作浓度。
3. 样品准备, 预估样品浓度, 若高于试剂盒中 BSA 标准溶液最高浓度, 使用工作浓度的样品稀释液稀释至检测范围内, 或者购买我公司高浓度牛血清白蛋白定量检测试剂盒, 货号 Bt0123-1812。在试剂盒检测范围内的样品, 需使用工作浓度的样品稀释液进行 2 倍稀释后检测。
4. HRP 标记抗体全部加至 HRP 标记抗体稀释液中稀释, 吸取不超过 0.5 mL 的稀释液清洗抗体瓶, 建议清洗 3 次, 在振荡器上振荡混匀待用。实验时取出实验所需量至洁净无污染的容器内再行添加, 避免对原瓶内液体产生污染。

操作步骤:

1. 取出实验所需量包被板条, 余下板条按要求封装尽快放回 2-8℃。加入 BSA 标准溶液、内部参比和待测样品, 50 μL /孔, 每浓度重复加 2-3 孔, 自封袋或封板膜封板, 室温避光孵育 1 小时。
2. 反应完成后洗板, 小心取出实验板, 甩掉孔内液体, 在吸水纸上轻拍五六次, 使用多道移液器每孔加 300-350 微升工作浓度的洗液, 加液时移液器头尖端应在板孔上方, 勿接触到板孔, 少量吸取洗液, 勿接触到移液头的滤芯, 甩掉洗液, 在吸水纸上轻拍五六次。按此法洗板 3 次。如使用洗板机, 须仅选用加液模式, 板孔内洗液手工甩掉, 在吸水纸上轻拍五六次, 避免使用吸干程序造成孔间污染。
3. 每孔加入 100 μL 工作浓度的 HRP 标记抗体, 自封袋或封板膜封板, 室温避光孵育 30 分钟。
4. 反应完成后, 按步骤 2 方式洗板。
5. 每孔加入 50 μL TMB 底物液, 自封袋或封板膜封板, 室温避光孵育 15 分钟。

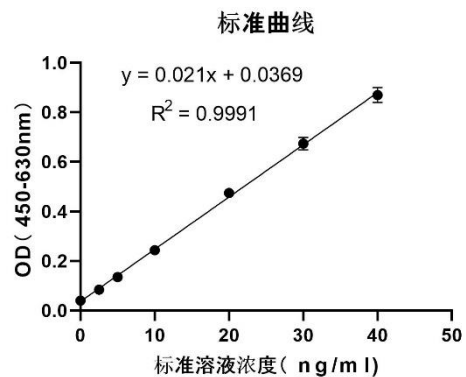
- 反应完成后，每孔加入 50 μL 终止液，注意与加入 TMB 底物液保持相同的加液速度。
- 酶标仪设置检测波长 450nm 和参考波长 630nm 读取 OD 值，如无 630nm 滤光片也可以使用单波长 450nm 。建议使用双波长。检测在反应终止后 30 分钟内完成。

数据分析：

- 对标准溶液和样品每浓度的重复孔 OD 值求取平均值、标准偏差、%CV，标准溶液和样品%CV 需 $\leq 15\%$ ，对于明显偏离的结果予以舍弃。见示例图 1。
- 建立标准曲线，使用 EXCEL 或者其它合适应用程序，对标准溶液浓度和对应的平均 OD 值进行线性回归拟合，得到标准曲线、回归方程及决定系数 R^2 ，见示例图 2。决定系数 R^2 需大于 0.99，标准溶液各浓度（2.5ng/mL 除外）回算相对误差（%RE）应在 $\pm 15\%$ 之内，2.5ng/mL 回算相对误差（%RE）应在 $\pm 20\%$ 之内，30 ng/mL 内部参比计算值在 30 ± 4.5 ng/mL 范围内。如决定系数 R^2 低于 0.99，为了使计算结果更准确，可使用四参数拟合，如有需要，具体拟合方法可以咨询我公司售后。
- 使用回归方程计算样品浓度，y 为 OD 值，x 为浓度，将样品平均 OD 值代入回归方程，求浓度 x 值，如果样品经过稀释，乘以稀释倍数即为该样品 BSA 含量。
- 样品取值，对于超出试剂盒检测范围的高浓度样品，取在试剂盒检测范围内的最低稀释倍数的含量值，在试剂盒检测范围内的样品，取 2 倍稀释的含量值。

标准溶液浓度 (ng/ml)	OD1 (450-630nm)	OD2 (450-630nm)	OD平均	%CV	计算值	%RE
0	0.04	0.041	0.0405	1.75	0.17	-
2.5	0.085	0.084	0.0845	0.84	2.27	9.33
5	0.137	0.134	0.1355	1.57	4.70	6.10
10	0.245	0.242	0.2435	0.87	9.84	1.62
20	0.471	0.478	0.4745	1.04	20.84	-4.19
40	0.848	0.891	0.8695	3.50	39.65	0.88
30	0.656	0.692	0.674	3.78	30.34	-1.13

示例图 1



示例图 2

储存条件及效期：

2-8 $^{\circ}\text{C}$ 保存，勿冻存，有效期 8 个月。

订购及售后信息：

公司名称：无锡伯泰生物科技有限公司
 地址：江苏省无锡市新吴区菱湖大道 97-1 兴业楼 C411
 订购：18601586117 夏经理
 售后：18115767613 崔经理