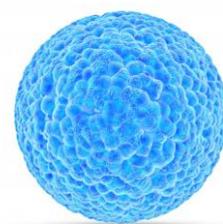


牛血清白蛋白检测试剂盒  
Bovine Serum Albumin Elisa Kit



## 牛血清白蛋白检测试剂盒

### 一、产品基本信息

产品名称	Applied Cell <sup>®</sup> 牛血清白蛋白检测试剂盒
货号	AC-1001070
规格	96T/48T
保存条件	未开封试剂盒，4℃保存；已开封，标准品-20℃保存，酶标板加干燥剂后密封-20℃保存，其他4℃保存
使用范围	用于测定血清，血浆及相关液体等样本。
保质期	6个月

### 二、产品简介

**牛血清白蛋白检测试剂盒**是埃泽思生物 (Applied Cell<sup>®</sup>) 自主研发的一款用于该试剂盒采用“一步”夹心法酶联免疫吸附试验 (ELISA) 体外定量检测血清、血浆、组织、细胞或其他相关生物液体中 BSA 浓度。

### 三、产品特性

- 检测范围：1.5ug/mL -48ug/mL
- 灵敏性：0.1ug/mL
- 特异性：可检测样本中的 BSA，且与其它类似物无明显交叉反应。
- 重复性：板内，板间变异系数均<10%。

### 四、产品内容

试剂	规格	运输
牛血清白蛋白检测试剂盒	96T	冰袋
牛血清白蛋白检测试剂盒	48T	冰袋

### 五、相关材料

- 重组胰蛋白酶检测试剂盒 (Applied Cell<sup>®</sup>:AC-1001026)
- 人间充质干细胞成骨分化试剂盒 (Applied Cell<sup>®</sup>:AC-1001027)
- 人间充质干细胞成软骨分化试剂盒 (Applied Cell<sup>®</sup>:AC-1001028)
- 人间充质干细胞成脂分化试剂盒 (Applied Cell<sup>®</sup>:AC-1001029)

## 六、试剂盒内容

名称	96 孔配置	48 孔配置	备注
微孔酶标板	8 孔 × 12 条	8 孔 × 6 条	2-8℃
标准品	0.3mL*6 管	0.3mL*6 管	-20℃ (用不完)
样本稀释液	6mL	3mL	按说明书进行稀释
检测抗体-HRP	10mL	5mL	2-8℃
底物 A	6mL	3mL	2-8℃
底物 B	6mL	3mL	2-8℃
终止液	6mL	3mL	2-8℃
20 × 浓洗涤缓冲液	25ml	15ml	无
封板膜	2 张	2 张	无

## 七、实验准备

### 所需自备物品

450nm 滤光片酶标仪 (建议仪器使用前预热) ; 高精度枪头: 0.5-10uL、2-20uL、20-200uL、200-1000uL ; 移液器; 灭菌注射水; 吸水纸; 37℃ 恒温箱;

## 八、试剂准备

- 8.1 使用前将试剂盒和标本缓慢均衡至室温 (18-25℃)。
- 8.2 标准品 (冻干品) : 试剂盒提供了已知浓度的 6 支标准品:

编号	Standard 1	Standard 2	Standard 3	Standard 4	Standard 5	Standard 6
ug/mL	1.5	3	6	12	24	48

样本的正常浓度值在试剂盒提供的检测范围内, 实验过程中直接取 50  $\mu$ L 样本上样即可。当有部分样本值超过最大标准品浓度时, 可用样本稀释液将标本进行适当稀释后再进行实验。

- 8.3 从试剂盒中取出的浓缩洗涤液可能有结晶, 属于正常现象; 放置室温, 轻摇均匀, 待结晶完全溶解后再配置洗涤液。可将 25ml 浓缩洗涤液用灭菌注射水稀释配置成 500ml 工作浓度的洗涤液, 未用完的放回 4℃ (48T 配制成 300ml 备用)。

8.4 20×洗涤缓冲液的稀释：按 1: 20 稀释，即 1 份 20×洗涤缓冲液加 19 份灭菌注射水。

注：标准品使用时要轻轻充分混匀，避免气泡为保证实验结果的准确请使用微量吸管，并校准微量加液器。

8.5 每一次实验，均需重新测定标准曲线。

#### 试剂准备注意事项

1. 试验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。特别是检测血液或者其他体液样品时，请按国家生物实验室安全防护条例执行。
2. 刚开启的酶标板孔中可能会有少许水样物质，此为正常现象，不会对实验结果造成任何影响。暂时不用的板条应拆卸后放入备用铝箔袋，按照上述表格中保存条件存放。
3. 检测使用的酶标仪需要安装能检测  $450 \pm 10\text{nm}$  波长的滤光片。
4. 不同批号的试剂盒组份不能混用(反应终止液除外)。
5. 试验中所用的 EP 管和吸头均为一次性使用，严禁混用。

### 九、样品收集方法

9.1 血清：全血样品于室温放置 2 小时或  $2-8^{\circ}\text{C}$  过夜后于  $1000 \times g$  离心 20 分钟，取上清即可检测，收集血液的试管应为一次性的无菌，无热源试管。

9.2. 血浆：抗凝剂推荐使用 EDTA 钠盐，样品采集后 30 分钟内于  $1000 \times g$  离心 15 分钟，取上清即可检测。避免使用溶血，高血脂样品。

9.3. 组织匀浆：用预冷的 PBS ( $0.01 \text{ M}$ ,  $\text{PH}=7.4$ ) 冲洗组织，去除残留血液，称重后将组织剪碎。将剪碎的组织与对应体积的 PBS (一般按 1: 9 的重量体积比，在 PBS 中需加入蛋白酶抑制剂) 加入玻璃匀浆器中，在冰上充分研磨。为了进一步裂解组织细胞，可以对匀浆液进行超声破碎或反复冻融。最后将匀浆液  $5000 \times g$  离心 5-10 分钟，取上清检测。

9.4. 细胞提取液：贴壁细胞用冷的 PBS 轻轻清洗，然后用胰蛋白酶消化， $1000 \times g$  离心 5 分钟后收集细胞；悬浮细胞可直接离心收集。收集的细胞用冷的 PBS 洗涤 3 次。每  $1 \times 10^6$  个细胞中加入  $200 \mu\text{L}$  PBS 重悬并通过反复冻融使细胞破碎(若含量很低可减少 PBS 的体积)。将提取液  $1500 \times g$  离心 10 分钟，取上清检测。

9.5. 细胞培养上清或其他生物体液： $1000 \times g$  离心 20 分钟，除去杂质及细胞碎片。取上清检测。

#### 样品收集注意事项

1. 样品收集后若在 1 周内进行检测的可保存于  $2-8^{\circ}\text{C}$ ，若不能及时检测，请按一次使用量分装，冻存于  $-20^{\circ}\text{C}$  (1 个月内检测)，或  $-80^{\circ}\text{C}$  (3 个月内检测)，避免反复冻融。
2. 试剂盒检测范围不等同于样本的浓度范围，如果您的样品中检测物浓度高于标准品最高值，需根据实际情况，做适当倍数稀释(建议查阅文献后先做预实验，以确定稀释倍数)。
3. 若所检样本不在说明书所列样本之中，建议做预实验验证其检测有效性。

4. 使用化学裂解液制备组织匀浆或细胞提取液，因引入某些化学物质会导致 ELISA 测值出现偏差。
5. 不能检测含  $\text{NaN}_3$  的样品，因  $\text{NaN}_3$  抑制辣根过氧化物酶的（HRP）活性。

## 十. 实验操作

注：根据待测样品数量加上标准品的数量决定所需的板条数。每个标准品和空白孔建议做复孔，每个样品根据自己的数量来定，能使用复孔的尽量做复孔。

- 11.1 试剂盒室温平衡 30min，然后从铝箔袋中取出所需板条，剩余板条用自封袋密封放回 4℃；
- 11.2 设置标准品孔和样本孔，标准品孔各加不同浓度的标准品 50  $\mu\text{L}$ ；
- 11.3 样本孔中加入待测样本 50  $\mu\text{L}$ ，空白孔不加；
- 11.4 除空白孔外，标准品孔和样本孔中每孔加入辣根过氧化物酶（HRP）标记的检测抗体 100  $\mu\text{L}$ ，用封板膜封住反应孔，37℃ 水浴锅或恒温箱温育 60min；
- 11.5 弃去液体，吸水纸上拍干，每孔加满洗涤液（350  $\mu\text{L}$ ），静置 1min，甩去洗涤液，吸水纸上拍干，如此重复洗板 5 次（也可用洗板机洗板）；
- 11.6 每孔加入底物 A、B 各 50  $\mu\text{L}$ ，37℃ 避光孵育 15min；
- 11.7 每孔加入终止液 50  $\mu\text{L}$ ，15min 内，在 450nm 波长处测定各孔的 O.D 值；

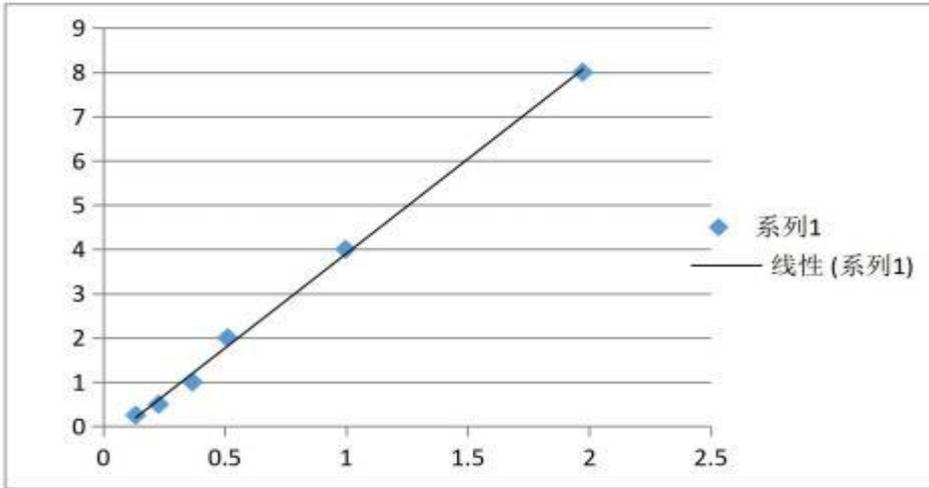
### 实验操作注意事项

1. 准备：准备一次实验所需要的酶标条，其他的可从微孔板上拆下，密封，按照说明书要求保存，以备下次使用；
2. 加样：实验操作中需使用一次性吸头，避免交叉污染。加样时不要有气泡，将样品加于酶标板底部，尽量不触及孔壁，轻轻晃动混匀，加样或加试剂时，第一个孔与最后一个孔加样之间的时间间隔如果太大，会导致不同的反应时间，影响到测量值的准确性及重复性。因此，一次加样时间（包括标准品及所以样品）最好控制在 5 分钟内；
3. 温育：为防止样品蒸发，实验时请将加上盖或覆膜的酶标板置于湿盒内，以避免液体蒸发，洗板后应尽快进行下一步操作，避免酶标板处于干燥状态，同时应严格遵守温育时间和温度；
4. 洗涤：充分的洗涤非常重要，在每次洗涤过程中，都要将洗涤液完全甩干。洗涤过程中反应孔中残留的洗涤液应在滤纸上空干，勿将滤纸直接放入反应孔中吸水，同时要保证板底不应有残留液体、指印及污渍等，避免影响酶标仪读数；
5. 反应时间的控制：加入显色液后需定时观察反应孔的颜色变化，如颜色较深，请提前加入终止液终止反应，避免反应过强从而影响酶标仪光密度读数；
6. 底物：底物请避光保存，在储存和温育时避免强光直接照射。

## 十一、结果分析

推荐使用专业制作曲线软件进行分析，如 curve expert 1.30，根据样品 O.D. 值，由标准曲线查出相应的浓度，再乘以相应稀释倍数（没有稀释不需要乘），即为样品实际浓度。各标准品及样本

0. D. 值扣除空白孔 0. D. 值后作图 (5 点图), 如设重复孔, 则应取其平均值计算。以标准品的浓度为纵坐标 (或对数坐标), 0. D. 值为横坐标 (或对数坐标), 绘出标准曲线 (最佳方程式应依回归方程计算的 R2 值来定, 以 R2 值越趋近于 1 为好)。



## 十二、警告

本试剂盒中终止液具有轻微腐蚀性, 使用时应避免接触衣物或眼、手等皮肤暴露部位。

生产企业:

上海埃泽思生物科技有限公司

地址: 上海市宝山区园丰路 69 号联东粤浦科技园 1 号楼 401 室

埃泽思 (福建) 生物科技有限公司

地址: 福建省福州市长乐区金滨路 458 号福建省精准医学产业创新中心

邮箱: service@appliedcell.cn

电话: 021-59541913

网址: www.appliedcell.cn

ISO9001 质量体系认证企业

医疗器械生产备案企业,

欧盟 CE 认证企业

文件版本号:

B202201