



牛血清白蛋白（BSA）残留检测试剂盒

[产品名称]

牛血清白蛋白（BSA）残留检测试剂盒

[产品编号]

PCDBA0901

[规格]

96T

[产品用途]

本试剂盒适用于生物制品制备过程中的牛血清白蛋白（BSA）残留物质的检测。
本产品仅限用于科学研究使用，不能用于临床诊断。

[产品特点]

- 试剂盒的标准品溯源：国家标准品（编号：BW1222-2，批次号：MN52392）
- 快速检测：一步法检测，90min 完成检测
- 灵敏度：最低检出 $<0.5\text{ng/mL}$
- 特异性：无明显交叉反应
- 兼容性：兼容性较强，无明显缓冲体系冲突

[检测原理]

本试剂盒采用的是双抗体夹心法，利用抗 BSA 抗体（Capture）包被于酶标板中，捕获样本中的 BSA，同时利用 HRP 标记的抗 BSA 抗体（Detection）结合样本中的 BSA。形成“三明治”结构，采用 TMB 底物对辣根过氧化物酶 HRP 反应产生浊度，在波长 A450（A630）测定吸光值，采用四参数法拟合方程，换算出对应样本的 BSA 含量。样本检测 OD 值与 BSA 含量成正比相关。

[产品组分]

编号	内容	规格	数量
DBA0901-01	牛血清白蛋白 BSA 抗体预包被板	96T / Kit	1
DBA0901-02	牛血清白蛋白 BSA 标准品	100ng/mL	2
DBA0901-03	HRP-Anti-BSA 抗体 100X	120ul / 支	1
PCEIA-01	样品稀释液 1X	20mL/瓶	2
PCEIA-03	HRP 稀释液 1X	12ml / 瓶	1
PCEIA-04	浓缩洗涤液 25X	20ml / 瓶	1
PCEIA-09	单组份 TMB 显色液	10ml / 瓶	1
PCEIA-10	TMB 终止液	10ml / 瓶	1
/	封板膜		4

[储存及运输条件]

储存：2~8℃

未拆封试剂盒请在有效期前使用；拆封后，2~8℃保存，30 天内使用完毕（未使用酶标条请置入干燥冷藏条件密封保存）。

运输：2~8℃（蓝冰运输）

[实验涉及仪器及耗材]

96 孔板酶标分析仪（450nm/630nm），若酶标仪无双波检测功能，则选择 450nm 单波测试
37℃恒温培养箱

可调节移液器 / 多通道移液器及吸头

纯化水或去离子水（用于稀释洗涤液 25X，稀释至 1X 使用）

[实验前准备]

- 1、为确保实验数据的准确性，尽可能将实验安排在洁净环境操作，实验操作前用 75%酒精对操作台和操作人员手臂进行擦拭，确保实验过程不引入除样本之外的其他任何含有 BSA 的物质介入；
- 2、准备好实验所需的各器具设备及耗材；
- 3、为确保实验反应的充足性，实验前将所涉试剂（含本试剂盒）置操作台，恒温至室温。

[实验步骤]

1、工作液配制：

1.1 利用去离子水或纯水，将浓缩洗涤液稀释至 1X，现配现用；

1.2 牛血清白蛋白 BSA 标准品稀释：

1.2.1 取洁净的 7 支 1.5mL 管，分别标记浓度 50ng/mL、25ng/mL、12.5ng/mL、6.25ng/mL、3.13ng/mL、1.56ng/mL；

1.2.2 分别取 300uL 的样品稀释液 1X，加入各管内；

1.2.3 从试剂盒取出一支牛血清白蛋白 BSA 标准品（100ng/mL），取 300uL 至标识为 50ng/mL 管中，混匀，获得浓度为 50ng/mL 标准品液；

1.2.4 进一步的，从 50ng/mL 管中，取 300uL 混合液体，至标识为 25ng/mL 管中，混合，获得浓度为 25ng/mL 标准品液；

1.2.5 以此类推，最终获得标准品梯度浓度液体：50ng/mL、25ng/mL、12.5ng/mL、6.25ng/mL、3.13ng/mL、1.56ng/mL；

1.3 根据实验用量（50ul/孔），用 HRP 稀释液按照 100 倍稀释 HRP-Anti-BSA 抗体 100X 获取 HRP-Anti-BSA 工作液；

1.4 待测样本前处理：

将待测样品恢复至室温，加样前混匀样品，如样品有沉淀，建议 1500 rpm/min，离心 5min，取上清进行检测。如待测样品浓度高于试剂盒检测上限，需用样品稀释液 1X 稀释至线性范围内进行检测。

2、加样：

2.1 将 7 个浓度梯度标准品液（0 孔标准品为样品稀释液 1X）按照 100ul/孔加入反应孔内；

2.2 将样本按照设计要求，100ul/孔加入对应反应孔内；

- 2.3 按照 50ul/孔，将 HRP-Anti-BSA 抗体工作液加入所有参与反应的酶标孔内；
- 2.4 盖上封板膜，放置 37℃ 孵育环静，反应 60min；
- 2.5 取出酶标反应板，撕掉封板膜，甩弃反应孔残液，并用预先配制好的洗涤工作液 1X，按照 300ul/孔，洗涤 4 次，拍干孔内残液（此步骤若为自动洗板机操作，则按照洗板机的操作步骤，设置参数为洗涤 4 次，加样量 300ul）
- 2.6 取试剂盒的单组份 TMB 显色液，按照 100ul/孔，加入反应孔，盖上封板膜，37℃ 避光反应 10min（反应时间根据实验室环境，可选择 37℃ 或室温，以标准品前 4 个低浓度孔出现明显颜色梯度即可终止反应。反应时间原则：TMB 反应时间不超过 30min，最长 30min 需要终止反应，以防止检测数据失真）
- 2.7 TMB 反应结束后，取出酶标板，按照 50ul/孔加入 TMB 终止液，轻敲混匀
- 2.8 判读
将酶标反应板，放入酶标仪，双波长设置 450nm/630nm 或单波长设置 450nm，测定吸光值。

[结果分析]

以标准品浓度梯度作为 X 轴，检测 OD 值作为 Y 轴，制作标准拟合曲线，拟合方程形式不限，以拟合方程的 R 值合格判断（R 值不低于 0.95），本试剂盒在研期间采用的是四参数拟合，R 值 ≥ 0.99 。

本试剂盒的检测范围为：0-50ng/mL，通过拟合曲线换算的样本浓度，若出现大 50ng/mL 的样本浓度，需将该样本进行稀释至浓度在检测范围内，重新检测；若检测样本浓度 $< 0.5\text{ng/mL}$ 的，则报告为小于 0.5ng/mL

[实验室数据]

具体检测 OD 值可能因不同实验室、实验员或设备而不同，酶标板都需要设置标准曲线，以下实验室数据仅供参考（ $r^2 = 0.99949$ ）

Standard No.	Concentration	OD (450nm)
Standard 0	0ng/mL	0.076
Standard 1	1.56ng/mL	0.257
Standard 2	3.13ng/mL	0.511
Standard 3	6.25ng/mL	0.906
Standard 4	12.5ng/mL	1.486
Standard 5	25ng/mL	1.994
Standard 6	50ng/mL	2.215

