

# BSA 酶联免疫检测试剂盒

## 【双夹心酶联免疫定量法】

产品货号： ATB05032

### 产品简介：

此定量检测牛血清白蛋白 (BSA) 酶联免疫试剂盒，采用抗 BSA 的单克隆配对抗体，分别作为包被抗体和检测抗体，组成双抗体夹心 ELISA 检测试剂盒，并与美国标准局的 BSA 标准品为参照标准，本试剂盒最低可检测到 1ng/mL 的 BSA。使用前请仔细阅读说明书并检查试剂组分！如有疑问，请及时联系我们。

### 产品组分：

组分名称	规格	保存条件	数量
ELISA 酶标板(包被抗 BSA 蛋白抗体)	96T	-20°C	1
BSA 标准品(32 ng/mL、16 ng/mL、8 ng/mL、4 ng/mL、2 ng/mL、1 ng/mL、0 ng/mL)	0.4ml/瓶	-20°C	各 1 瓶
BSA 内部参比 (20 ng/mL)	0.4ml/瓶	-20°C	1
TMB 底物显色液	A 和 B 各 6.5 mL	-20°C	1
显色底物终止液 (2N, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	13ml	4°C	1
样品稀释液	13ml	4°C	1
洗涤液 (10 倍浓缩)	30ml	4°C	1
酶标记抗体稀释液	13ml	4°C	1
酶标记抗 BSA 抗体	0.13 mL	-20°C	1
产品说明书			1

### 特别说明：

- 1.打开包装后请及时检查所有物品是否齐全完整。
- 2.一周内使用可存于 4°C，需长时间保存或多次使用请按保存条件存放。

### 实验所需自备物品：

- 1.酶标仪(450nm 波长滤光片)
- 2.高精度移液器，EP 管及一次性吸头：0.5-10 $\mu$ L, 2-20 $\mu$ L, 20-200 $\mu$ L, 200-1000 $\mu$ L
- 3.37°C恒温箱，双蒸水或去离子水
- 4.吸水纸

### 洗涤方法：

- 1.自动洗板机：每孔加入洗涤液 350 $\mu$ L，注入与吸出间隔 60 秒。

2.手工洗板：甩尽孔内液体，在洁净的吸水纸上拍干，每孔加洗涤液 350 $\mu$ L，浸泡 1-2 分钟，吸去（不可触及板壁）或甩掉酶标板内的液体，在厚的吸水纸上拍干。

#### 操作步骤:

- 1.将浓缩洗涤液用蒸馏水做 10 倍稀释。
- 2.取出包被有抗 BSA 的 96 孔酶标板在室温放置回温。标准品各浓度做平行两孔，50  $\mu$ L/孔加入酶标板中。加待检样品、内部参比，各两孔，50  $\mu$ L/孔。然后将酶标记抗体用酶标抗体稀释液做 1:100 稀释，加入各反应孔，100  $\mu$ L/孔（酶标记抗体用多少稀释多少，现用现配）。加样过程须在 15 min 内完成。
- 3.置室温 20–24 $^{\circ}$ C 避光反应 1 h，用洗涤液洗涤四遍，拍干。
- 4.用移液器加 TMB 底物显色液 100  $\mu$ L/孔（使用前 A、B 液等体积混合并恢复至室温），室温 20–24 $^{\circ}$ C 避光反应 10 min，请勿震荡。
- 5.用移液器加终止液 100  $\mu$ L/孔，稍微震荡 5s 混匀。
- 6.在酶标仪 450 nm 波长处读数。

#### 注意事项:

- 1.如样品中 BSA 含量高于 32 ng/mL，可将样品做适当稀释。
- 2.样品如为冻干制剂，应用样品稀释液充分溶解混匀。
- 3.反应时应将整板放入洁净的密闭空间中，为防止反应孔中落入异物。
- 4.洗涤拍干后，应消除各孔内残余的气泡。
- 5.开封后，将未使用的板条放回加入干燥剂的密封塑料袋中，置 4 $^{\circ}$ C 密闭保存。
- 6.在操作过程中，所使用的移液器吸头、清洗机（瓶）、器皿等均应严格避免被有 BSA 的环境和物品污染。

#### 结果判断:

- 1.实验有效参数:

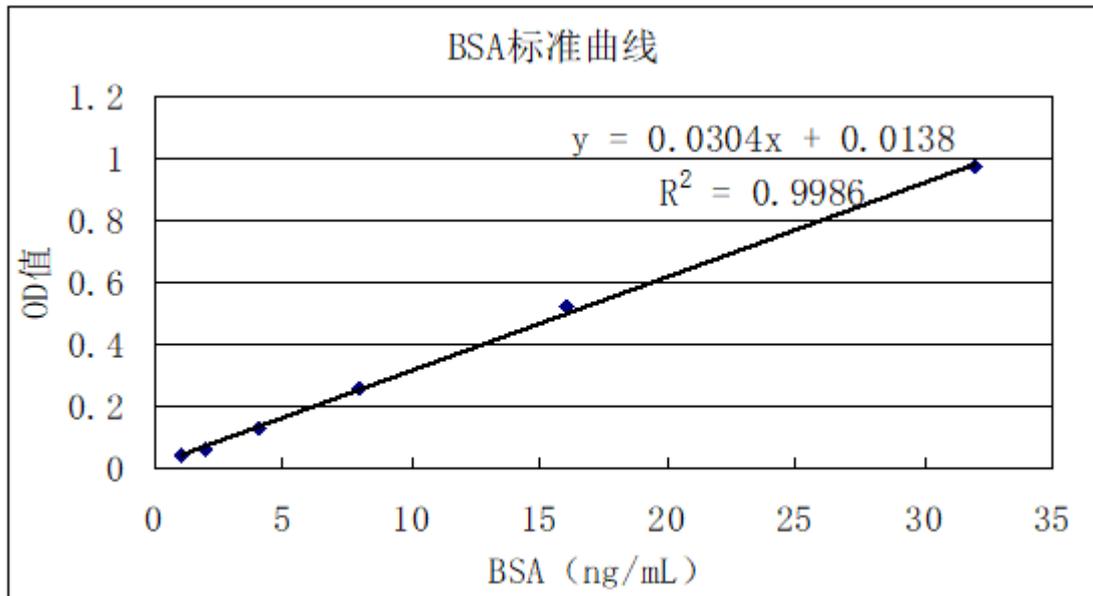
实验结果须满足以下有效参数为成立:

0 ng/ml OD 值 $\leq$ 0.1; 32 ng/ml OD 值 $\geq$ 0.80; 阳性参考 18–22 ng/ml;  $R_2 \geq 0.98$ ;

- 2.计算:

在 EXCEL 里面以标准浓度为横坐标，清零 OD 值为纵坐标作散点图，添加趋势线，再显示曲线方程和  $R_2$  值，将检测样品 OD 值清零处理后带入直线方程计算对应的浓度。

标准浓度	OD1	OD2	OD3	平均值	清零 OD
0	0.069	0.062	0.064	0.065	0
1	0.111	0.109	0.113	0.111	0.046
2	0.13	0.127	0.131	0.129	0.064
4	0.191	0.192	0.193	0.192	0.127
8	0.332	0.319	0.327	0.326	0.261
16	0.583	0.588	0.596	0.589	0.524
32	1.039	1.025	1.054	1.039	0.974



### 3.判定:

在标准曲线中, 设 OD 0–16 ng/mL 为区间 A; OD 16–32 ng/mL 为区间 B; 大于 OD 32 ng/mL 为区间 C。

- 1).如测得的 OD 值小于标准曲线中 2 ng/mL 对应 OD 值, 则 BSA 含量测定结果计为小于 2 ng/mL。
- 2).如不同稀释浓度的样本测得的 OD 值均位于区间 A, 则最终结果计算取其最低稀释度的测定值。
- 3).如不同稀释度的测定值均位于区间 B 或同时位于区间 A 和 B 或同时位于区间 B 和 C, 则取其最接近 OD 16 ng/mL 的测定值。
- 4).如不同稀释度测定值均位于区间 C, 则需将样本做进一步稀释测定, 使其测定值居 2 – 32 ng/mL 所对应的 OD 值区间, 计算方法按上述 7.3.2 – 4。
- 5).如高稀释度测得 OD 高于低稀释度或未稀释的样本 OD, 则可能是操作失误或样本中 BSA 含量过高 (HOOK 效应), 需重试或调整稀释度。
- 6).最终结果要考虑稀释因素 (实际 BSA 含量 = 计算值×稀释倍数)。

### 本试剂盒技术指标:

1.检测限和定量限检测限: 零浓度标准品加上两倍的标准差 (20 个零孔计算值), 本试剂盒检测限计算为 0.2 ng/mL (ppb)。定量限为标准曲线检测下限,1 ng/mL。

### 2.准确度和精密度

计算批内批间变异系数, 在高中低三个浓度 (20、10、5) 下五个重复检测计算批内变异系数, 不同时间重复三次计算批间变异系数, CV%均小于 10%。

批间				批内			
浓度(ng/ml)	SD	回收率%	CV%	浓度(ng/ml)	SD	回收率%	CV%
20	0.06	107.3	5.6	20	0.047	102.6	4.6
10	0.049	105.4	4.7	10	0.022	101.2	2.2
5	0.059	99.66	5.9	5	0.028	97.6	2.9

### 3.交叉反应

本试剂盒对人血白蛋白，小鼠血清，兔血清，鱼明胶没有交叉反应，而对山羊血清有 10%的交叉反应（以相同 OD 值时 BSA 和山羊血清的浓度的比值的百分数为准）。

和 BSA 没有交叉反应的物质	
反应物质	反应浓度
人血白蛋白	10 mg/mL
小鼠血清	10%
兔血清	10%
鱼明胶	1%

### 4.钩状效应

当样品浓度远高于标准曲线最高浓度的时候，会产生 HOOK 效应，即反应 OD 值小于 32 ng/mL 的 BSA 时候的浓度，本试剂盒为 500  $\mu$ g/mL 以上。

本产品仅供科研实验使用