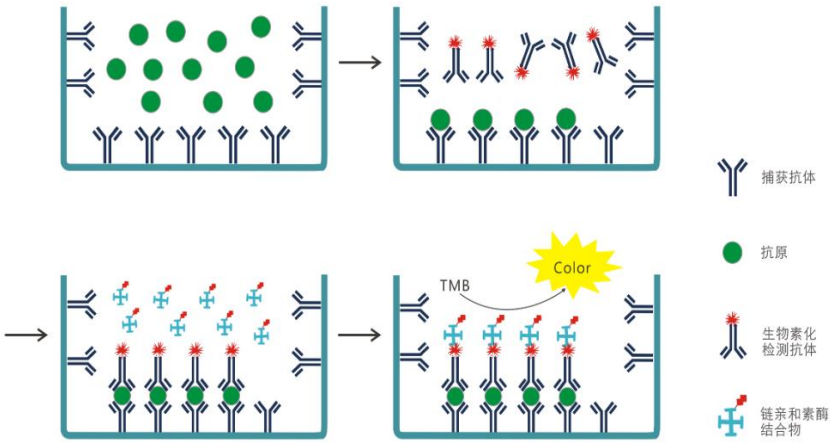
BSA 残留检测试剂盒（91-25-0024）

【检测原理】

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。



检测原理示意图

【试剂盒组分】

序号	试剂盒组分	规格	保存温度
1	抗 BSA 单克隆抗体包被的96孔板条	1块	4℃
2	BSA 标准品：32ng/mL、16ng/mL、8ng/mL、4ng/mL、2ng/mL、1ng/mL、0ng/mL	各 1 瓶（0.4mL/瓶）	-20℃
3	BSA 内部参比（20ng/mL）	1 瓶（0.4mL/瓶）	-20℃
4	TMB 底物显色液	1套（A和 B各 6.5mL）	4℃
5	显色底物终止液（2N，H_2SO_4）	1 瓶（13mL）	4℃
6	样品稀释液	1 瓶（13mL）	4℃
7	洗涤液（10倍浓缩）	1 瓶（50mL）	4℃
8	使用说明书	1份	4℃
9	酶标记抗 BSA 抗体	1 瓶（0.13mL）	-20℃
10	酶标记抗体稀释液	1 瓶（13mL）	4℃

【其他实验材料】(不提供，但可协助购买)：

1.酶标仪(450nm)

2.高精度可调移液器及吸头: 0.5-10, 2-20, 20-200, 200-1000μl;

3.自动洗板机或洗瓶

4.37℃温箱

5.双蒸水或去离子水、吸水纸、量筒

【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，50μL/孔加入酶标板中。加待检样品、内部参比，各两孔，50μL/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，100μL/孔（酶标记抗体用多少稀释多少，现用现配）。加样过程须在 15 分钟内完成。

3、置室温 20~24℃避光反应 1 小时，用洗涤液洗涤四遍，拍干。

4、用移液器加 TMB 底物显色液 100μL/孔，请勿震荡，室温 20~24℃避光反应 10 分钟。

5、用移液器加终止液 100μL/孔，稍微震荡 5s 混匀。

6、在酶标仪 450nm 波长处读数。

【结果判断】

1、实验有效参数：

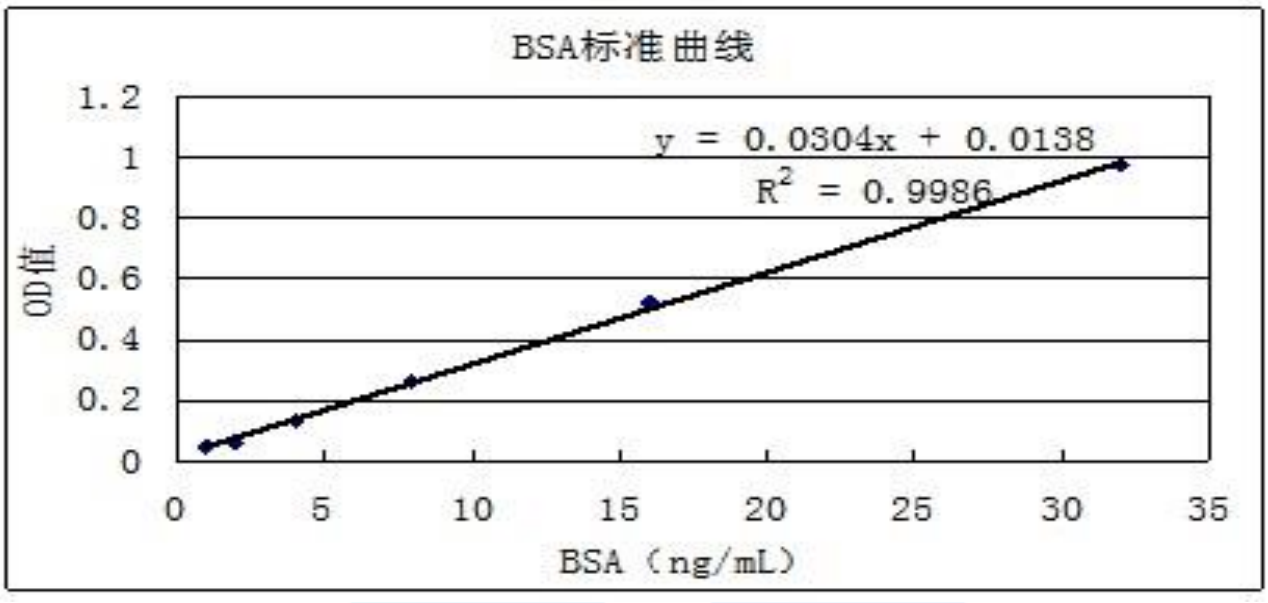
实验结果须满足以下有效参数为成立：

0ng/ml OD 值≤0.1； 32ng/ml OD 值≥0.80； 阳性参考 18~22ng/ml； R^2≥0.98；

2、计算：

在 EXCEL 里面以标准浓度为横坐标，消零 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 值消零处理后带入直线方程计算对应的浓度。

标准品浓度 (ng/ml)	OD值1	OD值2	OD值3	平均值	消零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



本图仅供参考，应以同次试验标准品所绘标准曲线为准

3、判定：

在标准曲线中，设 OD 0~16ng/mL 为区间 A；OD 16~32ng/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 2ng/mL 对应 OD 值，则 BSA 含量测定结果计为小于 2ng/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 16ng/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 2~32ng/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 X 稀释倍数）。

【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 0.2ng/mL(ppb)。定量限为标准曲线检测下限，1 ng/mL。

【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%。

【特异性】

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）。

【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32ng/mL的 BSA 时候的浓度，本试剂盒为500μg/mL以上。

【储存条件】

按照说明书中描述里的保存温度保存产品，有效期 6 个月。

【注意事项】

1、如样品中 BSA 含量高于 32ng/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℃密闭保存。

6、在操作过程中，所使用的移液器吸头、洗涤机（瓶）、器皿等均应严格避免被有 BSA 的环境和物品污染。