

尿微量白蛋白(MALB)含量检测说明书

(货号: BP10158W 微板法 96样 有效期: 3个月)

一、指标介绍:

尿液中的 MALB 与试剂中特异性的 MALB 抗体结合,形成抗原抗体复合物而产生浊度,其浊度与 MALB 的含量成正比。通过测定特定波长的吸光度,参照校准曲线可以计算出 MALB 的浓度。

二、测试盒组成和配制:

| 试剂组分 | 试剂规格 | 存放温度 | 注意事项 |
|------|-------------|--------|--|
| 试剂一 | 液体 15mL×1 瓶 | 4℃避光保存 | |
| 试剂二 | 液体 5mL×1 瓶 | 4℃避光保存 | |
| 标准管 | 粉剂 1 支 | 4℃避光保存 | 1. 若重做标曲,则用到该试剂 2. 临用前8000g 4℃离心2min使试剂落入管底; 3. 加0.5ml蒸馏水,溶解混匀,浓度见标签;用不完的试剂-20度分装保存(一周内用完),禁止反复冻融; |

三、实验器材:

研钵(匀浆机)、冰盒(制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅(烘箱、培养箱、金属浴)、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水(去离子水、超纯水均可)

四、指标测定:

建议先选取 1-3 个差异大的样本(例如不同类型或分组)进行预实验,熟悉操作流程,根据预实验结果确定或调整样本浓度,以防造成样本或试剂不必要的浪费!

1、样本提取:

尿液样本: 24 小时尿液或者随时尿液, 样本可在-20℃保存 2 个月(不可反复冻融), 测定前样本可离心后取上清液测定。

2、检测步骤:

- ① 酶标仪预热 30min(等待仪器过自检程序亦可),设定波长到 340nm。
- ② 在96孔板中按下表依次加入:

| 试剂组分(μL) | 测定管 | 空白管 | | |
|---------------------------|-----|-----|--|--|
| 样本 | 15 | | | |
| 蒸馏水 | | 15 | | |
| 试剂一 | 150 | 150 | | |
| 混匀, 37℃条件下, 孵育 5min, | | | | |
| 于 340nm 处读取吸光值 A1。 | | | | |
| 试剂二 | 50 | 50 | | |
| 混匀, 37℃条件下, 孵育 5min, | | | | |
| 于 340nm 处读取吸光值 A2, | | | | |
| ΔA=测定管(A2-A1)-空白管(A2-A1)。 | | | | |

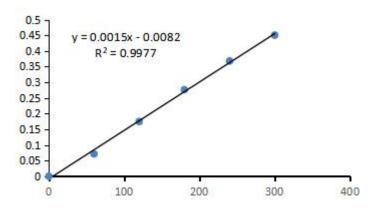
【注】: 若 ΔA 大于 0.4,则需要用蒸馏水或生理盐水稀释样本后再测定,则释倍数 D 带入公式计算。

五、结果计算:

1、标准曲线: y = 0.0015x - 0.0082, x 是标准品浓度 (mg/L) , y 是 $\triangle A$ 。

网址: www.bpelisa.com





2、尿微量白蛋白 (MALB) 含量(mg/L)=(△A+0.0082)÷0.0015×D=666.67×(△A+0.0082)×D

D---稀释倍数,未稀释即为1; 线性范围---2-200mg/L;

准确度---相对偏差<15%; 精密度---批内 CV<6%, 批间 CV<10%。

附:标准曲线制作过程:

1 标曲为非必做实验, 用户可根据实验需求制作标曲, 亦可直接采用说明书计算公式进行结果计算。

2 标准品母液浓度见标签。将母液用蒸馏水按下表稀释成六个浓度梯度的标准品,也可根据实际样本调整标准品浓度后再参考下表进行稀释。

3 标品稀释参照表如下:

| 标品编号 | S0 | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 |
|------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 标品母液 uL | 0 | 40 | 80 | 120 | 160 | 200 |
| 水 uL | 200 | 160 | 120 | 80 | 40 | 0 |
| 记录各标准管对应浓度(mg/L),混匀待用。 | | | | | | |

4 依据测定管的加样表操作,根据结果,以各浓度吸光值减去0浓度吸光值,过0点制作标准曲线。

| 试剂组分 (μL) | 标准管 | 0 浓度管(仅做一次) | | | |
|-----------------------------|-----|-------------|--|--|--|
| 标品 | 15 | | | | |
| 蒸馏水 | | 15 | | | |
| 试剂一 | 150 | 150 | | | |
| 混匀, 37℃条件下, 孵育 5min, | | | | | |
| 于 340nm 处读取吸光值 A1。 | | | | | |
| 试剂二 | 50 | 50 | | | |
| 混匀, 37℃条件下, 孵育 5min, | | | | | |
| 于 340nm 处读取吸光值 A2, | | | | | |
| ΔA=标准管(A2-A1)-0 浓度管(A2-A1)。 | | | | | |

网址: www.bpelisa.com