

免疫球蛋白 IgA 含量(免疫比浊法)含量检测试剂盒

(货号: ADS-W-D035 微板法 96 样 有效期: 3 个月)

一、指标介绍:

该检测基于 IgA 抗体与 IgA 抗原间的反应, 形成免疫复合物, 在波长 340nm 处检测其浊度变化, 其变化程度与样本中的 IgA 含量成正比。

二、试剂盒组分与配制:

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
试剂一	液体 28mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂二	液体 6mL×1 瓶	4℃避光保存	
标准管	粉剂 1 支	4℃避光保存	每支: 1. 临用前 8000g 4℃离 2min 使试剂落入管底; 2. 加 0.1ml 蒸馏水, 一周内用完, 配成的浓度见标签。

三、实验器材:

研钵(匀浆机)、天平、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:

① 组织样本:

取约 0.1g 组织, 加入 1mL 生理盐水, 进行冰浴匀浆。4℃×12000rpm 离心 5min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量(g): 生理盐水体积(mL)为 1: 5~10 的比例进行提取。

② 液体样本: 澄清的液体可直接检测; 若浑浊则离心后取上清液检测。

③ 血清, 肝素或 EDTA 抗凝血浆。血清或血浆应当在收集后 2 小时内血细胞中被分离。2℃-8℃下保存 3 个月。样本中胆红素≤600μmol/L, 溶血≤5g/L, 血脂≤5g/L 时未观察到明显干扰

④ 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 生理盐水, 超声波破碎细菌或细胞(冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000rpm 4℃离心 5min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量(10⁴): 生理盐水(mL)为 500~1000: 1 的比例进行提取。

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 所有试剂解冻至室温(25℃)或于 25℃水浴条件下孵育 5-10 分钟, 在 96 孔板中依次加入:

试剂组分(μL)	测定管	空白管	标准管
----------	-----	-----	-----

		(仅做一次)	(仅做一次)
样本	2		
蒸馏水		2	
标准品			2
试剂一	250	250	250
混匀, 37°C 孵育 5min 后, 于 340nm 处读取 A1。			
试剂二	50	50	50
混匀, 37°C 孵育 5min 后, 于 340nm 处读取 A2, $\Delta A = A2 - A1$ 。			

【注】：1. 若 ΔA 值小于 0.005, 可增加样本加样体积 V1 (如由 2 μ L 增至 5 μ L, 空白管也由 2 μ L 增至 5 μ L 蒸馏水, 标准管仍然为 2 μ L+3 μ L 蒸馏水 (总体积同测定管和空白管即 5 μ L); 其他试剂均保持不变), 则改变后的 V1 代入公式重新计算。

2. 若 ΔA 值大于 0.6, 可对样本用蒸馏水或生理盐水稀释后测定, 则稀释倍数 D 带入公式计算即可。

五、结果计算:

1、按组织质量计算:

$$\text{免疫球蛋白 IgA 含量 (mg/g)} = (C_{\text{标准}} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \div (V_1 \div V \times W) \times D$$

$$= C_{\text{标准}} \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \div W \times D$$

2、按蛋白浓度计算:

$$\text{免疫球蛋白 IgA 含量 (mg/mg prot)} = (C_{\text{标准}} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \div (V_1 \div V \times C_{\text{pr}}) \times D$$

$$= C_{\text{标准}} \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \div C_{\text{pr}} \times D$$

3、按照体积计算:

$$\text{免疫球蛋白 IgA 含量 (mg/ml)} = (C_{\text{标准}} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \div V_1 \times D$$

$$= C_{\text{标准}} \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \times D$$

4 按细胞数量计算:

$$\text{免疫球蛋白 IgA 含量 (mg/10}^4 \text{ cell)} = (C_{\text{标准}} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \div (500 \times V_1 \div V) \times D$$

$$= C_{\text{标准}} \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \div 500 \times D$$

C 标准---标品浓度见标签;

V1---加入样本体积, 0.002mL;

V2---加入标准品体积, 0.002mL;

D--稀释倍数, 未稀释即为 1。

V---生理盐水体积, 1mL

W---样本取样质量, g

500---细菌/细胞数量, 万

Cpr---上清液蛋白浓度, mg/mL, 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒