

LBIS™ Rat Urinary Albumin Assay Kit

Please, read this instruction carefully before use.

1. Intended use

LBIS™ Rat Urinary Albumin Assay Kit is a research reagent for an autoanalyzer to measure albumin in rat urine or serum using anti-rat albumin antibody. This is intended for research use only.

2. Introduction

Albumin is mostly a simple hydrophilic protein present in cells and body fluids. Albumin is synthesized in the liver, and serum albumin (M.W. 69,000, pI 4.9) occupies 56% - 60% of total serum proteins. Because of its large population, albumin is very important in maintaining plasma osmotic pressure. Albumin can bind hydrophobic physiological substances e.g. fatty acids, bilirubin, and thyroxine and contributes the transfer of these substances. Concentration of albumin in serum is lowered in liver cirrhosis, malnutrition, and pyrexial diseases due to decreased biosynthesis or increased consumption of albumin in, and also by secretion into urine in renal damage. In normal human subjects, excretion of albumin into urine is very little, about 30 mg/day, but increased in glomerulonephritis, nephritic syndrome, and diabetic nephropathy. Urinary albumin sometimes increases in pyrexia, hypertension, congestive heart failure (CHF), and urinary tract infection (UTI). Even in healthy human, a transient upraise of urinary albumin is observed after hard exercise, muscle work, bathing in high temperature water, mental excitement, stress, intake of much protein, and before menstruation. These are called physiological or functional or sports proteinuria (albuminuria). Orthostatic proteinuria (albuminuria) is observed in teenagers. Rare hereditary analbuminemia in human is really albumin deficiency. A model analbuminemia rat has been established by Dr. Sumi Nagase which has been derived from Sprague-Dawley strain, and is called Nagase analbuminemia rat (NAR). Routine measurement of serum albumin is conveniently made with FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation's TIA assay kit for automatic analyzers. FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation's Albumin ELISA Kit can measure urinary albumin with high sensitivity, and is also applied to *in vitro* albumin biosynthesis system, checking of contamination with albumin in biological active substance preparations obtained by culture system, and liver transplantation experiments using NAR.

3. Assay Principle

In FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation's LBIS™ Rat Urinary Albumin Assay Kit, albumin in samples and antibody of Reagent 2 bring about antigen-antibody reaction, and it makes turbidity. Since this turbidity depends on its antigen concentration, it makes possible to detect albumin concentration by measuring this turbidity at 340 nm/700 nm.

4. Performance Characteristics

- Assay range
The assay range of the kit is 6.17 - 500 $\mu\text{g/mL}$.
- Precision of assay
Within assay variation (3 samples, 5 replicates assay), Mean CV was within 7.5%.
- Reproducibility
Between assay variation (3 samples, 4 days, 3 replicates assay), Mean CV was within 7.5%.
- Dilution linearity test
Sample was serially diluted by 4 steps and measured.
The dilution curve showed linearity with $R^2 = 0.998$.

5. Reference Data

Strain	Week old	Gender	Number	Sample	Mean	Standard deviation
CD	6 w	Female	5	Urine	19.4 $\mu\text{g/mL}$	0.13 $\mu\text{g/mL}$

*Urine was not diluted.

*These data should be considered as guidance only. Each laboratory should establish its own normal and pathological reference ranges for albumin levels independently.

6. Precautions

- Beginners are advised to use this kit under the guidance of experienced person for autoanalyzer.
- Do not use this product for other purpose or in other way except stated in this manual.
- Note that operation of autoanalyzer is different in each machine. Follow your own machine's protocol.

- Do not drink, eat or smoke in the areas where assays are carried out.
- This kit contains components of animal origin. These materials should be handled as potentially infectious.
- Be careful not to allow the reagent solutions of the kit to touch the skin, eyes and mucus membranes. In case of contact with these wash skin/eyes thoroughly with water and seek medical attention, when necessary.
- Wear gloves and eye and clothing protection when handling these reagents.
- The materials must not be pipetted by mouth.
- Use clean laboratory glassware.
- Do not use with different lot numbers. Performance or character is different in each lot number. Also avoid extension of reagents within same lot as it may influence assay results.
- Store all reagents in a refrigerator at 2°C - 10°C strictly. Do not freeze reagents.

7. Reagents supplied

Components	Use Status	Amount	
		60 tests	250 tests
1) Reagent 1	Ready for use.	18.5 mL / 1 bottle	57.8 mL / 1 bottle
2) Reagent 2	Ready for use.	6.6 mL / 1 bottle	16.5 mL / 1 bottle
3) Rat Urinary Albumin Standard	Concentrated. Use after dilution.	2 mL / 1 bottle	1.5 mL / 2 bottles
4) Buffer for Standard	Ready for use.	4 mL / 1 bottle	5 mL / 2 bottles

• Storage and Stability

[1) Reagent 1]

Store at 2°C - 10°C.

[2) Reagent 2]

Store at 2°C - 10°C.

[3) Rat Urinary Albumin Standard]

Store the unused reagents at 2°C - 10°C.

[4) Buffer for Standard]

Store at 2°C - 10°C.

8. Equipments or supplies required but not supplied ☐ Use as a check box

- ☐ An autoanalyzer
- ☐ Purified water (distilled water)
- ☐ Physiological saline
- ☐ Test tubes for preparation of standard solution series
- ☐ Pipettes (disposable tip type)
- ☐ A vortex-type mixer

9. Preparation of Samples

This kit is intended to measure albumin in rat urine or serum.

Urinary samples

Run your assay soon after collection of urinary samples. If you would like to store urinary samples for a long time, store them below -35°C. Turbid samples or those containing insoluble materials should be centrifuged or filtered before testing to remove any particulate matter.

Serum samples

Serum samples should be immediately assayed after collection or stored below -35°C for a long-time storage. Dilute samples to the proper rate for assay. Hemolytic and hyperlipemic serum samples are not suitable.

- * If presence of interfering substance is suspected, examine by dilution test at more than 2 points.
- * Dilute samples with purified water for an autoanalyzer, or dilution of samples should be made in a test tube using saline solution. Obtained value should be raised its dilution rate to be assay value.
- * Before starting assay, shake thawed samples sufficiently. Do not repeat freeze-and-thaw cycles.
- * Adjust samples' pH within 6.5 - 7.5.
- * **To avoid influence of blood (high lipid or hemolysis, etc.), if your original samples have heavy chyle or hemolysis, do not use them for assay. Abnormal value might be obtained with hemolysis above 200 mg/dL with this kit.**

10. Preparation of Reagents

- ◆ Prepare reagent solutions in appropriate volume for your assay. Do not store the diluted reagents.
- ◆ Do not use the reagents after expiration date indicated on the label of the box.

• Reagents ready for use

- 1) Reagent 1
- 2) Reagent 2
- 4) Buffer for Standard

• Concentrated reagents

- 3) Rat Urinary Albumin Standard

Dilute Rat Urinary Albumin Standard serially 3× using 4) Buffer for Standard.

To make 6 points of standard curve specimen, use Buffer for Standard for the 0 μg/mL.

The example is shown below. (* One rank higher standard.)

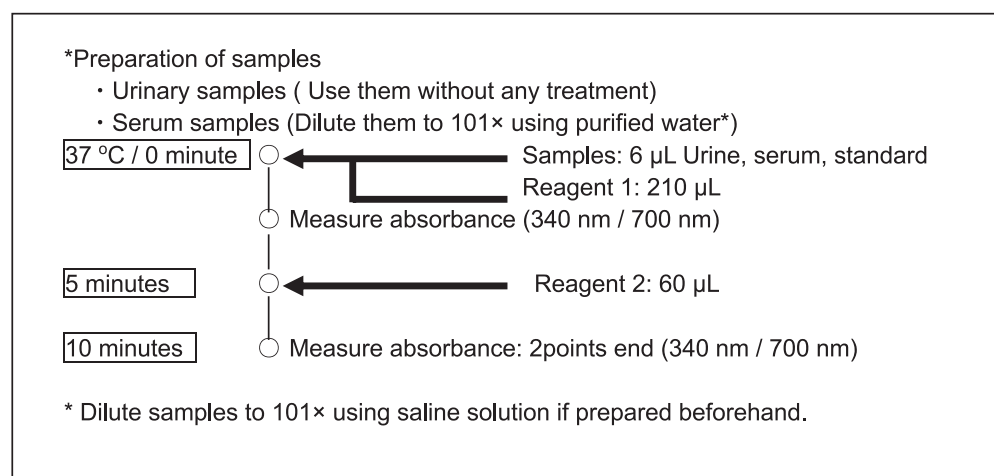
Concentration (μg/mL)		500	167	55.6	18.5	6.17	0
Standard solution (μL)	orig.sol.:	500	250*	250*	250*	250*	0
Buffer solution (μL)		0	500	500	500	500	500

Diluted standard solutions can be stable within a week if stored 2°C - 10°C.

11. Assay Procedure

For Hitachi 7180 autoanalyzer

*Note that operation of autoanalyzer is different depending on the type of machines



12. Technical Tips

- Be careful to avoid any contamination of assay samples and reagents. We recommend using disposal pipette tips.
- Be careful not to make bubbles in samples and every reagent. Check if there are bubbles before setting into autoanalyzer. If so, remove them using filter paper before starting assay.
- Calibrate the analyzer before assay.
- Used samples and consumables should be rinsed in 1% formalin, 2% glutaraldehyde, or more than 0.1% sodium hypochlorite solution for more than 1 hour, or be treated by an autoclave before disposal. Also, dispose consumable materials and unused contents in accordance with applicable regional/national regulatory requirements.

13. Storage and Expiration

The complete kit is stored at 2°C - 10°C. Opened reagents should be used as soon as possible to avoid loss in optimal assay performance caused by storage environment.

LBIS™ Rat Urinary Albumin Assay Kit

[Storage]	Store the kit at 2 - 10°C (Do not freeze)
[Expiration date]	Indicated on the label
[Package]	For 60 tests / 250 tests
[Cat #]	297-92901 (60 tests)
	293-92903 (250 tests)

FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation

1-2, Doshomachi 3-Chome, Chuo-Ku, Osaka 540-8605, Japan
Telephone : + 81-6-6203-3741
Facsimile : + 81-6-6201-5964
<http://flwk.fujifilm.co.jp>

FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation

1600 Bellwood Road
Richmond, VA 23237
U.S.A.
Telephone : + 1-804-271-7677
Facsimile : + 1-804-271-7791
<http://www.wakousa.com>

FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH

Fuggerstrasse 12
D-41468 Neuss
Germany
Telephone : + 49-2131-3111-0
Facsimile : + 49-2131-311100
<http://www.wako-chemicals.de>

レビス™ ラット尿中アルブミン測定キット

1. イントロダクション

アルブミンは細胞や体液中に含まれ、水溶性の高い主として単純タンパク質ですが、糖を含むものも見出されています。血漿アルブミンは血漿タンパク質中の56%～60%を占める分子量約69,000、等電点4.9の単純タンパク質で、肝細胞で合成されます。血漿アルブミンは血漿タンパクの大半を占め、浸透圧維持に重要な役割を果たし、水に難溶性の物質、例えば生理的には脂肪酸、ビリルビン、チロキシンなどと結合してこれらの運搬作用に寄与しています。血漿アルブミンの濃度は、肝硬変などでのアルブミンの生合成低下、栄養不良や熱性疾患での体タンパク質損耗に基づく血液中のアルブミンの消費、腎障害による尿への漏出等で低下します。

健康人での尿中への血漿アルブミンの排泄は通常ごく僅かで1日30mg以下ですが、腎疾患に際して尿中への漏出が増大するので糸球体腎炎、ネフローゼ症候群、糖尿病性腎症等の腎疾患で尿中アルブミンレベルは増大します。また発熱、高血圧、うっ血性心不全、尿路感染症などの場合に尿中アルブミンレベルが増加することがあります。健康人でも過激な運動や筋肉労働後、熱い湯での入浴後、精神的興奮、ストレス、多量のタンパク質の摂取後および月経前などに尿中アルブミンの一過性増加がみられ、生理的または機能的タンパク尿或いは運動性蛋白尿と言われます。また主に若年者において、しばしば起立時にのみタンパク尿がみられることがあります。

ヒトで低アルブミン血症と呼ばれるまれな先天性疾患があり、無アルブミン血症とも呼ばれますが正確にはごく少量のアルブミンがあり、臨床症状は軽度の浮腫と中等度の低血圧であり、肝機能異常やタンパク尿は認められないようです。動物ではラットに無アルブミン血症 *analbuminemia* のモデルがあります。佐々木研究所の長瀬スミ先生が *Sprague-Dawley rat* (SD rat) から開発されたもので、NAR (*Nagase albuminemia rat*) と呼ばれています。

血清(血漿)アルブミンの測定は、マクロ的にはTIAの測定系がよく、弊社ではラット、マウス、サルについての自動測定装置用TIAを提供しております。また、ELISAによる測定系も提供しており、高感度で微量測定が可能です。

本キットは抗ラットアルブミン抗体を使用したラットアルブミンを測定するための自動分析装置専用研究用試薬です。このキットは研究のみにご使用下さい。

◆製品の特長

- ・自動分析装置を用い短時間で測定可能です。
- ・本キットはラット尿中または血清中のアルブミンを測定します。
- ・全試薬液状なので取り扱いが簡便です。
- ・乳び、溶血の影響をほとんど受けず、再現性に優れています。
- ・標準品はラット由来のものです。

2. 測定原理

本キットは検体中のアルブミンと反応試液2中の抗体が抗原抗体反応を起こし、濁りを生じます。この濁度は抗原濃度に依存するため、この濁度を340nm / 700nmで測定することによりアルブミン濃度を求めることができます。

3. キットの性能

- ・測定範囲
ラットアルブミンを6.17 $\mu\text{g/mL}$ ～ 500 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で測定できます。
- ・精度試験
(1) 精度試験(アッセイ内変動)(5重測定、3検体) 平均C.V.値は7.5%未満
(2) 再現性試験(アッセイ間変動)(3重測定、3検体、4日間) 平均C.V.値は7.5%未満
- ・希釈直線性
検体を連続的に4段階希釈し測定した結果、直線回帰の R^2 は0.998でした。

4. 参考値

系統	週齢	雌雄	匹数	検体	平均値	標準偏差
CD	6w	雌	5	尿	19.4 $\mu\text{g/mL}$	0.13 $\mu\text{g/mL}$

*尿は希釈無し

※飼育条件、採血条件、検体保管条件により測定値は変動しますので、この測定値は目安としてお使い下さい。

5. 注意事項

- ・本キットは自動分析装置の操作法の研修を修了した方、または指導者の下でご使用下さい。
- ・取扱説明書に記載された使用目的および操作方法以外での使用は行わないで下さい。

- ・自動分析装置により測定操作方法が異なりますので注意して下さい。
- ・準備並びに本キット操作中は手袋、眼鏡、保護用着衣を身につけて下さい。
- ・試薬類を皮膚に付けないで下さい。本キットの試薬が誤って、目、口、傷口、皮膚等に付着した場合は直ちに水道水で充分に洗い流す等の応急処置を行い、必要な場合は医師の手当てを受けて下さい。
- ・本キットを使用している場所では飲食や喫煙をしないで下さい。
- ・本キットは動物由来の成分を含んでいます。検体は感染の危険性があるものとして充分注意して取り扱って下さい。
- ・試薬類は口でビベティングしないで下さい。
- ・ロット番号の違うものとは混ぜて使わないで下さい。性能および性状が変わります。同一ロット内の試液継ぎ足しも測定値に影響を与える場合がありますので避けて下さい。
- ・試液は必ず冷蔵保存（2℃～10℃）し、凍結させないで下さい。

6. 提供試薬

構 成 試 薬	状 態	容 量	
		60 回用	250 回用
1) Reagent 1 反応試液 1	そのまま使用	18.5mL / 1 本	57.8mL / 1 本
2) Reagent 2 反応試液 2	そのまま使用	6.6mL / 1 本	16.5mL / 1 本
3) Rat Urinary Albumin Standard 尿中ラットアルブミン標準品	希釈後使用	2mL / 1 本	1.5mL / 2 本
4) Buffer for Standard 標準品用緩衝液	そのまま使用	4mL / 1 本	5mL / 2 本

試薬の安定性と保存方法

1) 反応試液 1

2℃～10℃で保存して下さい。

2) 反応試液 2

2℃～10℃で保存して下さい。

3) 尿中ラットアルブミン標準品

未使用の試液は 2℃～10℃で保存して下さい。

4) 標準品用緩衝液

2℃～10℃で保存して下さい。

7. キット以外に必要な器具

- ・自動分析装置
- ・精製水（蒸留水）
- ・生理食塩水
- ・標準溶液希釈用試験管
- ・チップ交換型ビベット
- ・攪拌器（Vortex タイプ）

8. 検体の調製

本キットはラット尿中または血清中のアルブミンを測定します。

尿検体

採尿後すぐに測定するか、長期に保存する場合は -35℃ 以下で凍結保存して下さい。また、濁り及び不溶物のある検体は遠心分離または濾過等で除去後測定に用いて下さい。

血清検体

採血後すぐに測定するか、長期に保存する場合は -35℃ 以下で凍結保存して下さい。適当倍率に希釈し測定して下さい。溶血がひどい検体や高脂質検体は使わないで下さい。

【検体についての注意事項】

- * 検体を希釈する場合、自動分析装置で行う場合は精製水で希釈して下さい。あらかじめ試験管等を用い希釈する場合は生理食塩水で希釈して下さい。得られた値に希釈倍数を乗じ測定値として下さい。
- * 凍結した検体は測定する直前に解凍し充分にして下さい。繰り返しの凍結融解は避けて下さい。正しい結果が得られない原因になります。
- * 検体の pH が 6.5 ～ 7.5 の間にあることを確認して下さい。
- * 妨害物質の影響が疑わしい検体は、同一検体において、異なる 2 ポイント以上の希釈率で希釈直線性を確認して下さい。

※血液成分の影響（高脂質・溶血等）を抑制する為に原検体中の脂質（乳び）・溶血が高い場合は異常値発生の原因となる場合がありますので測定に使用しないで下さい。本キットの場合、溶血は200mg/dL以上で影響が現れます。

*キット外箱のラベルに記載されている使用期限の過ぎた試薬は使用しないで下さい。

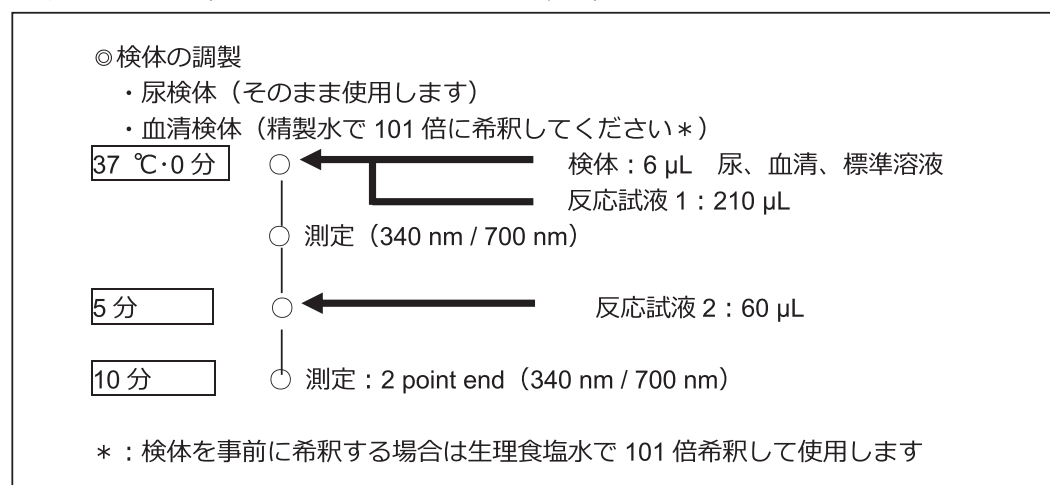
- 1) 反応試液 1
- 2) 反応試液 2
- 4) 標準品用緩衝液

アルブミン濃度 $0\text{ }\mu\text{g/mL}$ は、4) 標準品用緩衝液を使用して、6 点標準曲線作成用標品として下さい。これは一例です。

濃度 (μg/mL)	500	167	55.6	18.5	6.17	0
標準溶液 (μL)	原液: 500	250*	250*	250*	250*	0
緩衝液 (μL)	0	500	500	500	500	500

希釈した各標準溶液は2℃～10℃で密閉保存し1週間使用可能です。

* 操作方法は使用する自動分析装置によって異なりますので注意して下さい。



- ・検体と試薬に不純物が混ざらないように気をつけて下さい。使い捨てチップのご使用をお勧めします。
- ・検体および各試液はできるだけ泡立てないように取り扱い、自動分析装置にセットする際は泡がないことを確認して下さい。泡がある場合は濾紙等で取り除いた後、測定を開始して下さい。
- ・検体を測定する前に必ずキャリブレーションを行って下さい。
- ・検体測定の際には管理試料【120-07071 レピス™ ラットアルブミン コントロール血清】を用い精度管理を行うことをお勧めします。
- ・上記管理試料が無い場合は検体測定の間標準溶液を一定間隔でセットしモニターすることをお勧めします。
- ・使用済みの検体、使用した消耗品等は1%ホルマリン、2%グルタルアルデヒドまたは0.1%以上の次亜塩素酸ナトリウム溶液に1時間以上浸けて下さい。またはオートクレーブ滅菌処理して廃棄して下さい。また、使用した消耗品や未使用の薬品類は所属先施設の規定並びに各地域の法令にしたがって破棄して下さい。

キットは2℃～10℃で保存して下さい。開封した各試薬につきましては、保管の状態により、影響を受ける可能性がありますので早めのご使用を推奨します。使用期限の過ぎた試液は使用しないで下さい。

13. 問い合わせ先

分析パラメータは、以下よりお問い合わせ下さい。

富士フイルム和光純薬株式会社

〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号

e-mail : ffwk-labchem-tec@fujifilm.com

【製品名】	レビス TM ラット尿中アルブミン測定キット
【和光コード】	297-92901 (60 回用) 293-92903 (250 回用)
【英語表記】	LBIS TM Rat Urinary Albumin Assay Kit
【貯法】	2 ～ 10℃ 保存
【使用期限】	ラベルに記載
【包装】	60 回用／250 回用

製造発売元

富士フイルム 和光純薬株式会社

大阪市中央区道修町三丁目1番2号

Tel : 06-6203-3741