

大鼠层粘蛋白(LN)酶联免疫分析

试剂盒使用说明书

本试剂盒仅供研究使用。

检测范围:

96T

10 μ g/L -400 μ g/L

使用目的:

本试剂盒用于测定大鼠血清、血浆及相关液体样本中层粘蛋白(LN)含量。

实验原理

本试剂盒应用双抗体夹心法测定标本中大鼠层粘蛋白(LN)水平。用纯化的大鼠层粘蛋白(LN)抗体包被微孔板,制成固相抗体,往包被单抗的微孔中依次加入层粘蛋白(LN),再与HRP标记的层粘蛋白(LN)抗体结合,形成抗体-抗原-酶标抗体复合物,经过彻底洗涤后加底物TMB显色。TMB在HRP酶的催化下转化成蓝色,并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和样品中的层粘蛋白(LN)呈正相关。用酶标仪在450nm波长下测定吸光度(OD值),通过标准曲线计算样品中大鼠层粘蛋白(LN)浓度。

试剂盒组成

1	30倍浓缩洗涤液	20ml \times 1瓶	7	终止液	6ml \times 1瓶
2	酶标试剂	6ml \times 1瓶	8	标准品(800 μ g/L)	0.5ml \times 1瓶
3	酶标包被板	12孔 \times 8条	9	标准品稀释液	1.5ml \times 1瓶
4	样品稀释液	6ml \times 1瓶	10	说明书	1份
5	显色剂A液	6ml \times 1瓶	11	封板膜	2张
6	显色剂B液	6ml \times 1/瓶	12	密封袋	1个

标本要求

1. 标本采集后尽早进行提取,提取按相关文献进行,提取后应尽快进行实验。若不能马上进行试验,可将标本放于-20 $^{\circ}$ C保存,但应避免反复冻融
2. 不能检测含NaN₃的样品,因NaN₃抑制辣根过氧化物酶的(HRP)活性。

操作步骤

1. 标准品的稀释:本试剂盒提供原倍标准品一支,用户可按照下列图表在小试管中进行稀释。

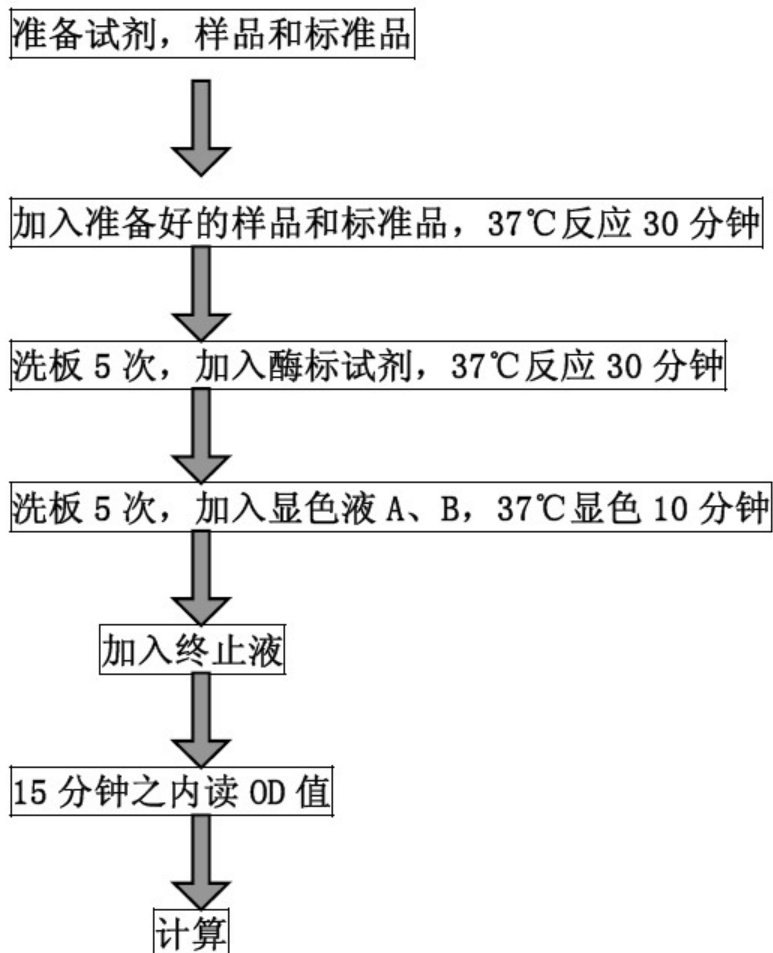
400 μ g/L	5号标准品	150 μ l的原倍标准品加入150 μ l标准品稀释液
200 μ g/L	4号标准品	150 μ l的5号标准品加入150 μ l标准品稀释液
100 μ g/L	3号标准品	150 μ l的4号标准品加入150 μ l标准品稀释液
50 μ g/L	2号标准品	150 μ l的3号标准品加入150 μ l标准品稀释液
25 μ g/L	1号标准品	150 μ l的2号标准品加入150 μ l标准品稀释液

2. 加样:分别设空白孔(空白对照孔不加样品及酶标试剂,其余各步操作相同)、标准孔、待测样品孔。在酶标包被板上标准品准确加样50 μ l,待测样品孔中先加样品稀释液40 μ l,

然后再加待测样品 10 μ l (样品最终稀释度为 5 倍)。加样将样品加于酶标板孔底部, 尽量不触及孔壁, 轻轻晃动混匀。

3. 温育: 用封板膜封板后置 37 $^{\circ}$ C 温育 30 分钟。
4. 配液: 将 30 倍浓缩洗涤液用蒸馏水 30 倍稀释后备用
5. 洗涤: 小心揭掉封板膜, 弃去液体, 甩干, 每孔加满洗涤液, 静置 30 秒后弃去, 如此重复 5 次, 拍干。
6. 加酶: 每孔加入酶标试剂 50 μ l, 空白孔除外。
7. 温育: 操作同 3。
8. 洗涤: 操作同 5。
9. 显色: 每孔先加入显色剂 A50 μ l, 再加入显色剂 B50 μ l, 轻轻震荡混匀, 37 $^{\circ}$ C 避光显色 15 分钟。
10. 终止: 每孔加终止液 50 μ l, 终止反应 (此时蓝色立转黄色)。
11. 测定: 以空白调零, 450nm 波长依序测量各孔的吸光度 (OD 值)。测定应在加终止液后 15 分钟以内进行。

操作程序总结:



计算

以标准物的浓度为横坐标, OD 值为纵坐标, 在坐标纸上绘出标准曲线, 根据样品的 OD 值由标准曲线查出相应的浓度; 再乘以稀释倍数; 或用标准物的浓度与 OD 值计算出标准曲线的直线回归方程式, 将样品的 OD 值代入方程式, 计算出样品浓度, 再乘以稀释倍数,

即为样品的实际浓度。

注意事项

1. 试剂盒从冷藏环境中取出应在室温平衡 15-30 分钟后方可使用，酶标包被板开封后如未用完，板条应装入密封袋中保存。
2. 浓洗涤液可能会有结晶析出，稀释时可在水浴中加温助溶，洗涤时不影响结果。
3. 各步加样均应使用加样器，并经常校对其准确性，以避免试验误差。一次加样时间最好控制在 5 分钟内，如标本数量多，推荐使用排枪加样。
4. 请每次测定的同时做标准曲线，最好做复孔。如标本中待测物质含量过高（样本 OD 值大于标准品孔第一孔的 OD 值），请先用样品稀释液稀释一定倍数（ n 倍）后再测定，计算时请最后乘以总稀释倍数（ $\times n \times 5$ ）。
5. 封板膜只限一次性使用，以避免交叉污染。
6. 底物请避光保存。
7. 严格按照说明书的操作进行，试验结果判定必须以酶标仪读数为准。
8. 所有样品，洗涤液和各种废弃物都应按污染物处理。
9. 本试剂不同批号组分不得混用。
10. 如与英文说明书有异，以英文说明书为准。

保存条件及有效期

1. 试剂盒保存：2-8℃。
2. 有效期：6 个月