

本试剂盒只能用于科学研究，不得用于医学诊断。

## 植物烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADPH)ELISA 试剂盒使用说明书

### 【植物烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)ELISA 试剂盒 试剂盒名称】

植物烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)ELISA 试剂盒

### 【植物烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)ELISA 试剂盒 试剂盒用途】

定量植物血清、血浆及相关液体样本中烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)的含量

### 【植物烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)ELISA 试剂盒检测原理】

本试剂盒采用双抗体两步夹心酶联免疫吸附法(ELISA)。将标准品、待测样本加入到预先包被烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)透明酶标包被板中，温育足够时间后，洗涤除去未结合的成分，再加入酶标工作液，温育足够时间后，洗涤除去未结合的成分。依次加入底物 A、B，底物(TMB)在辣根过氧化物酶(HRP)催化下转化为蓝色产物，在酸的作用下变成黄色，颜色的深浅与样品中烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)浓度呈正相关，450nm 波长下测定 OD 值，根据标准品和样品的 OD 值，计算样本中烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)含量。

### 【植物烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)ELISA 试剂盒 试剂盒组成】

1		酶标包被板	12 孔×8 条	7	底物夜 A	6mL
2		标准品: 200ng/ml	0.6mL	8	底物夜 B	6mL
3		20 倍浓缩洗涤液	20mL	9	终止液	6mL
4		标准品稀释液	6mL	10	说明书	1 份
5		样本稀释液	6mL	11	封板膜	1 张
6		酶标试剂	6mL	12	密封袋	1 个

备注：标准品用标准品稀释液依次稀释为：200、100、50、25、12.5、6.25ng/ml

### 【植物烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)ELISA 试剂盒需要而未提供的试剂和器材】

- 1、37℃恒温箱
- 2、标准规格酶标仪
- 3、精密移液器及一次性吸头
- 4、蒸馏水
- 5、一次性试管
- 6、吸水纸

### 【植物烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)ELISA 试剂盒操作步骤】

- 1、准备：从冰箱取出试剂盒，室温复温平衡 30 分钟。
- 2、配液：用蒸馏水将 20 倍浓缩洗涤液稀释成原倍的洗涤液。
- 3、加标准品和待测样本：取足够数量的酶标包被板，固定于框架上，分别设置标准品孔、待测样本孔和空白对照孔，记录各孔位置，在标准品孔中加入标准品 50 $\mu$ L；待测样本孔中先加入待测样本 10 $\mu$ L，再加样本稀释液 40 $\mu$ L（即样本稀释 5 倍）；空白对照孔不加。
- 4、温育：37 $^{\circ}$ C 水浴锅或恒温箱温育 30min。
- 5、洗板：弃去液体，吸水纸上拍干，每孔加满洗涤液，静置 1min，甩去洗涤液，吸水纸上拍干，如此重复洗板 4 次（也可用洗板机按说明书操作洗板）。
- 6、加酶标工作液：每孔加入酶标工作液 50 $\mu$ L，空白对照孔不加。
- 7、温育：重复 4 的操作。
- 8、洗板：重复 5 的操作。
- 9、显色：每孔先加入显色剂 A 液 50 $\mu$ L，再加入显色剂 B 液 50 $\mu$ L，37 $^{\circ}$ C 避光显色 15min。
- 10、终止：取出酶标板，每孔加终止液 50 $\mu$ L，终止反应（颜色由蓝色立转黄色）。
- 11、测定：以空白孔调零，在终止后 15 分钟内，用 450nm 波长测量各孔的吸光值（OD 值）。
- 12、计算：根据标准品的浓度及对应的 OD 值，计算出标准曲线的直线回归方程，再根据样本的 OD 值，在回归方程上计算出对应的样品浓度，也可以使用各种应用软件来计算。最终浓度为实际测定浓度乘以稀释倍数。

#### **【植物烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADPH) ELISA 试剂盒 样本要求】**

- 1、样本不能含叠氮钠 ( $\text{NaN}_3$ )，因为叠氮钠 ( $\text{NaN}_3$ ) 是辣根过氧化物酶 (HRP) 的抑制剂。
- 2、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。若不能立即试验，可将标本放于 -20 $^{\circ}$ C 保存，但应避免反复冻融。
- 3、样本应充分离心，不得有溶血及颗粒。

#### **【植物烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADPH) ELISA 试剂盒注意事项】**

- 1、实验严格按照说明书的操作进行，实验结果判定必须以酶标仪读数为准。
- 2、酶标包被板开封后如未用完，应立即装入密封袋中加干燥剂保存。
- 3、建议所有的标准品、样本和空白对照都做双份检测，取平均值，以减小实验误差。
- 4、牢记样本已经稀释 5 倍，计算结果乘以 5 才是样本实际浓度。
- 5、本试剂盒定量范围为 0.1-200ng/ml，超过此范围，为标准曲线延伸计算所得，

不做为准确定量结果，请用特殊稀释液稀释后测定准确结果（0.1-200ng/ml 范围内），乘以总稀释倍数即为样本最终浓度。

6、若显色过浅，可适当延长底物温育时间。

7、为避免交叉污染，标准品、样本和空白对照每加一个就要更换一次吸头；酶标工作液、样本稀释液和底物等公共组分，要悬臂加样，不得碰到微孔；不得重复使用封板膜。

8、试剂盒保质期内使用，不同批号的试剂不得混用。

9、底物 B 对光敏感，避免长时间暴露于光下。

#### 【植物烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADPH) ELISA 试剂盒操作程序总结】

准备试剂，样品和标准品



加入准备好的样品和标准品，37℃反应 30 分钟



洗板 4 次，加入酶标试剂，37℃反应 30 分钟



洗板 4 次，加入显色液 A、B，37℃显色 15 分钟



加入终止液



15 分钟之内读 OD 值



计算

#### 【植物烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADPH) ELISA 试剂盒检测范围】

0.1-200ng/ml

#### 【植物烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADPH) ELISA 试剂盒规格】

96T/盒、48T/盒

#### 【植物烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADPH) ELISA 试剂盒贮藏】

2-8℃，避光防潮保存。

#### 【植物烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADPH) ELISA 试剂盒有效期】

6 个月