

小鼠巴尔通抗体 (Bar Ab) ELISA KIT

英文名称: Mouse (Bar Ab) ELISA KIT

规 格: 96T

货 号: NLM582

尊敬的客户:

感谢您选用本公司 ELISA 系列产品。本产品选用世界著名生产厂家的原料, 采用专业体外诊断试剂生产技术制造, 仅供科研使用。本试剂盒用于测定小鼠血清、血浆及相关液体样本巴尔通体抗体(Bar Ab)的表达。具体适用样本请咨询。使用前请仔细阅读说明书并检查试剂组分。如有疑问, 请咨询武汉纽莱生物科技有限公司 Email:sale@newlif.com.cn 电话: 18674031376

本试剂盒仅供体外研究使用, 不用于临床诊断。

实验原理

本试剂盒应用双抗原夹心法测定标本中小鼠巴尔通体抗体(Bar Ab)表达。用纯化的抗原包被微孔板，制成固相抗原，可与样品中巴尔通体抗体(Bar Ab)相结合，经洗涤除去未结合的抗体和其他成分后再与HRP 标记的抗原结合，形成抗原-抗体-酶标抗原复合物，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。用酶标仪在450nm波长下测定吸光度（OD 值），与CUTOFF 值相比较，从而判定标本中小鼠巴尔通体抗体(Bar Ab)的存在与否。

用途： 本试剂盒用于测定小鼠血清、血浆及相关液体样本中巴尔通体抗体(Bar Ab)表达。

试剂盒组成及保存

中文名称	规格	开封后保存条件
ELISA 酶标板	96T: 8 孔×12 条 48T: 8 孔×6 条	2-8℃ 90天
阳性对照	96T: 0.5mlx1 48T: 0.25mlx1	2-8℃ 90天
阴性对照	96T: 0.5mlx1 48T: 0.25mlx1	2-8℃ 90天
HRP标记试剂	96T: 6mlx1 48T: 3mlx1	2-8℃ 90天
样品稀释液	96T: 6mlx1 48T: 3mlx1	2-8℃ 180天
显色剂A	96T: 6mlx1 48T: 3mlx1	2-8℃(避光) 180天
显色剂B	96T: 6mlx1 48T: 3mlx1	2-8℃(避光) 180天
终止液	96T: 6mlx1 48T: 3mlx1	2-8℃ 180天 180天
30倍浓缩洗涤液	96T: 20mlx1 48T: 10mlx1	2-8℃ 180天 180天
说明书	1份	
封板膜	2张	
密封袋	1个	

说明：未拆封的试剂盒可以在2-8℃ 保存六个月

试剂盒所需自备物品

1. 酶标仪(450nm波长滤光片)
2. 高精度移液器，EP管及一次性吸头：0.5-10μ L, 2-20μ L, 20-200μ L, 200-1000μ L
3. 37℃恒温箱
4. 双蒸水或去离子水
5. 吸水纸
6. 加样槽

样品收集方法（具体处理方法请咨询）

- 1. 血清:** 用无菌管收集，室温血液自然凝固10-20分钟，2-8℃条件离心20分钟左右（2000-3000转/分）仔细收集上清，保存过程中如出现沉淀，应再次离心。
- 2. 血浆:** 应根据标本的要求选择EDTA、肝素钠或柠檬酸钠作为抗凝剂，混合10-20分钟后，2-8℃条件离心20分钟左右（2000-3000转/分），仔细收集上清，保存过程中如有沉淀形成应该再次离心。
- 3. 尿液:** 用无菌管收集，2-8℃条件离心20分钟左右（2000-3000转/分）。仔细收集上清，保存过程中如有沉淀形成，应再次离心。
- 4. 组织匀浆:** 用预冷的PBS (0.01M, pH =7.4)冲洗组织，去除残留血液，称重后将剪碎的组织与对应体积的PBS(一般按1:9的重量体积比，比如1 g的组织样品对应9 mL的PBS，具体体积可根据实验需要适当调整，并做好记录。推荐在PBS中加入蛋白酶抑制剂)加入玻璃匀浆器中，在冰上充分研磨。为了进一步裂解组织细胞，可以对匀浆液进行反复冻融或超声破碎。最后将匀浆液于2-8℃，5000×g离心5-10分钟取上清检测。
- 5. 细胞提取液:** 贴壁细胞用冷的PBS轻轻清洗，然后用胰蛋白酶消化，1000×g离心5分钟后收集细胞。悬浮细胞可直接离心收集。收集的细胞用冷的PBS洗涤3次。每10⁶个细胞中加入150-200 μL PBS重悬(推荐在PBS中加入蛋白酶抑制剂；若含量很低可减少PBS的体积)并通过反复冻融或超声使细胞破碎。将提取液于2-8℃，1500×g离心10分钟，取上清检测。
- 6. 细胞培养上清或其他生物体液:** 收集液体后于2-8℃，1000×g离心20分钟，除去杂质及细胞碎片，取上清检测。

试剂盒注意事项

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（n×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传染物处理。
9. 本试剂不同批号组分不得混用。

样本收集注意事项

- 1.不能检测含NaN₃的样品，因NaN₃抑制辣根过氧化物酶的（HRP）活性。
- 2.标本采集后尽快进行实验，若不能马上进行试验，可将标本放于-20℃保存，但应避免反复冻融。
- 3.我们罗列的是通用的样本处理方法，无法涵盖各种样本，对于一些特殊样本，建议实验人员多参考已发表的文献，自行设计合理的样本处理方法。

检测前准备工作

- 1.请提前20分钟从冰箱中取出试剂盒，以平衡至室温。
- 2.用双蒸水将30×浓缩洗涤液稀释成1×工作液。未用完的放回4℃。
- 3.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。

操作步骤

1. 编号：将样品对应微孔按序编号，每板应设阴性对照 2 孔、阳性对照 2 孔、空白对照 1 孔（空白对照孔不加样品及酶标试剂，其余各步操作相同）
2. 加样：分别在阴、阳性对照孔中加入阴性对照、阳性对照 50μl。然后在待测样品孔先加样品稀释液 40μl，然后再加待测样品 10μl。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℃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 50μl，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 A50μl，再加入显色剂 B50μl，轻轻震荡混匀，37℃避光显色15 分钟。
- 10 终止：每孔加终止液 50μl，终止反应（此时蓝色立转黄色）。
11. 测定：以空白孔调零，450nm 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。

结果判断

试验有效性：阳性对照孔平均值 ≥ 1.00 ; 阴性对照平均值 ≤ 0.20

临界值：(CUT OFF) 计算：临界值=阴性对照孔平均值+0.15

阴性判定：样品 OD 值 < 临界值 (CUT OFF) 者为巴尔通体抗体(Bar Ab)阴性

阳性判定：样品 OD 值 $\geq$ 临界值 (CUT OFF) 者为巴尔通体抗体(Bar Ab)阳性

注意事项

1. 操作严格按照说明书进行，本试剂不同批号组分不得混用。
2. 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。
3. 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。
4. 封板膜只限一次性使用，以避免交叉污染。
5. 底物请避光保存。
6. 试验结果判定必须以酶标仪读数为准，使用双波长检测时，参考波长为 630nm
7. 所有样品，洗涤液和各种废弃物都应按传染物处理。终止液为 2M 的硫酸，使用时必须注意安全。

