

肌聚糖 Delta (SGCd) 酶联免疫分析 (ELISA)

试剂盒使用说明书

本试剂盒仅供研究使用。

使用目的:

本试剂盒用于测定样本中肌聚糖 Delta (SGCd) 的含量。

实验原理

本试剂盒应用酶联免疫竞争法测定标本中肌聚糖 Delta (SGCd) 水平。用纯化的肌聚糖 Delta (SGCd) 抗体包被微孔板,制成固相抗体,往包被单抗的微孔中加入肌聚糖 Delta (SGCd),和 HRP 标记的肌聚糖 Delta (SGCd) 抗原,使它们竞争结合,,经过彻底洗涤后加底物 TMB 显色。样本颜色的深浅和样品中的肌聚糖 Delta (SGCd) 的含量呈负相关。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肌聚糖 Delta (SGCd) 的含量。

试剂盒组成

1	30 倍浓缩洗涤液	20ml×1 瓶	8	标准品 S1 (40ng/mL)	0.5ml×1 瓶
2	酶标试剂	6ml×1 瓶		标准品 S2 (20ng/mL)	0.5ml×1 瓶
3	酶标包被板	12 孔×8 条		标准品 S3 (10ng/mL)	0.5ml×1 瓶
4	显色剂 A 液	6ml×1 瓶		标准品 S4 (5ng/mL)	0.5ml×1 瓶
5	显色剂 B 液	6ml×1 瓶		标准品 S5 (2.5ng/mL)	0.5ml×1 瓶
6	终止液	6ml×1/瓶	9	说明书	1 份
7	样品稀释液	6ml×1/瓶	10	封板膜	2 张

标本要求

1. 标本处理: (1) 水样 采集后经 -20℃反复冻融三次,再经玻璃纤维过滤后,备查
(2) 组织 样品用丁醇: 甲醇: 水(5: 25: 70 V: V: V)抽提,或按相关文献提取进行,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℃保存,备查
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. 加样: 分别设标准孔、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)、待测样品孔。在酶标包被板上标准孔中加 50 微升,待测样品孔中先加样品稀释液 40μl,然后再加待测样品 10μl(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。
2. 加酶: 每孔加入酶标试剂 50μl,空白孔除外。
3. 温育: 用封板膜封板后置 37℃温育 60 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. 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。

7. 终止：每孔加终止液 50 μ l，终止反应（此时蓝色立转黄色）。
8. 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。

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传染物处理。
9. 本试剂不同批号组分不得混用。

检测范围：

1ng/mL - 50ng/mL

规格：

96 份/盒

保存条件及有效期

1. 试剂盒保存：2-8 $^{\circ}$ C。
2. 有效期：6 个月