

产品说明书

产品编号：NBE-236820

版本号：RN6.2



产品名称 NebuEasy™ 通用型组氨酸(Histidine)ELISA试剂盒

产品规格 96T

检测范围 1umol/L-50umol/L

储存条件 4°C保存，有效期见标签

产品应用 NebuEasy™ 通用型组氨酸(Histidine)ELISA试剂盒（产品编号：NBE-236820）可用于测定液体样本中组氨酸（Histidine）的含量。

检测原理 本试剂盒应用酶联免疫竞争法测定标本中组氨酸水平。用纯化的组氨酸抗体包被微孔板，制成固相抗体，往包被单抗的微孔中加入组氨酸，和 HRP 标记的组氨酸抗原，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组氨酸的含量呈负相关。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组氨酸的含量。

- 试剂盒组分**
- ✧ 30×浓缩洗涤液 (20ml×1瓶)
 - ✧ 酶标试剂 (6ml×1瓶)
 - ✧ 酶标包被板 (12孔×8条)
 - ✧ 样品稀释液 (6ml×1瓶)
 - ✧ 显色剂A液 (6ml×1瓶)
 - ✧ 显色剂B液 (6ml×1瓶)
 - ✧ 终止液 (6ml×1瓶)
 - ✧ 标准品 S1 (40umol/L) (0.5ml×1 瓶)
 - ✧ 标准品 S2 (20umol/L) (0.5ml×1 瓶)
 - ✧ 标准品 S3 (10umol/L) (0.5ml×1 瓶)
 - ✧ 标准品 S4 (5umol/L) (0.5ml×1 瓶)
 - ✧ 标准品 S5 (2.5umol/L) (0.5ml×1 瓶)
 - ✧ 封板膜 (2张)

[样品处理]

- ✧ 水样：样品采集后经 -20°C反复冻融三次，再经玻璃纤维过滤后，备用。
- ✧ 组织样品：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°C保存，备用。

注意：不能检测含 NaN3 的样品，因NaN3抑制辣根过氧化物酶（HRP）活性。

产品说明书

产品编号：NBE-236820

版本号：RN6.2



[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 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。
2. 加酶：每孔加入酶标试剂 50 μ l，空白孔除外。
3. 温育：用封板膜封板后置 37°C 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 A50 μ l，再加入显色剂 B50 μ l，轻轻震荡混匀，37°C 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。

[结果计算]

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) 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°C 保存，但应避免反复冻融。另外，本试剂盒不能检测含NaN3的样品，因NaN3抑制辣根过氧化物酶的（HRP）活性。
- 2) 试剂盒从冷藏环境中取出应在室温平衡 1 小时后方可使用，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) 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。
- 5) 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（ $\times n \times 5$ ）。
- 6) 封板膜只限一次性使用，以避免交叉污染。
- 7) 底物请避光保存。
- 8) 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
- 9) 所有样品，洗涤液和各种废弃物都应按传染物处理。