

产品说明书

产品编号: NBE-236213

版本号: RN6.0



产品名称	NebuEasy™ 犬中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)ELISA试剂盒
产品规格	96T
检测范围	0.1µg/L -5µg/L
储存条件	4℃保存, 有效期见标签
产品应用	NebuEasy™ 犬中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)ELISA试剂盒 (CAT#NBE-236213) 可用于测定样本中中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)含量。
检测原理	本试剂盒应用双抗体夹心法测定标本中犬中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)水平。用纯化的犬中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)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中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL), 再与HRP标记的中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)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中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)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犬中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)浓度。
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 (8µg/L) (0.5ml×1瓶) ✧ 标准品稀释液 (1.5ml×1瓶) ✧ 封板膜 (2张) ✧ 密封袋 (1个)

产品说明书

产品编号: NBE-236213

版本号: RN6.0



[操作步骤]

1. 标准品稀释:

标准品编号	标准品浓度	标准品配置方法
5号标准品	4 μ g/L	将150 μ l的原始标准品加入150 μ l标准品稀释液
4号标准品	2 μ g/L	将150 μ l的5号标准品加入150 μ l标准品稀释液
3号标准品	1 μ g/L	将150 μ l的4号标准品加入150 μ l标准品稀释液
2号标准品	0.5 μ g/L	将150 μ l的3号标准品加入150 μ l标准品稀释液
1号标准品	0.25 μ g/L	将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: 操作同步骤3。

8. 洗涤: 操作同步骤5。

9. 显色: 每孔先加入显色剂A 50 μ l, 再加入显色剂B 50 μ l, 轻轻震荡混匀, 37 $^{\circ}$ C避光显色10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 $^{\circ}$ 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。

产品说明书

产品编号: NBE-236213

版本号: RN6.0



- 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。