

产品说明书

产品编号：NBE-236882

版本号：RN6.0



产品名称	NebuEasy™ 核糖-5-磷酸(R5P)ELISA试剂盒
产品规格	96T
检测范围	1 - 800 pg/mL (最低检测浓度1 pg/mL)
储存条件	4°C保存，有效期见标签
产品应用	NebuEasy™ 核糖-5-磷酸(R5P)ELISA试剂盒 (产品编号：NBE-236882) 可用于测定血清、血浆、体液及细胞培养上清中 核糖-5-磷酸(R5P)的含量。
检测原理	本试剂盒采用竞争法酶联免疫吸附试验 (ELISA)。往预先包被核糖-5-磷酸(R5P)抗体的包被微孔中，依次加入标本、标准品、HRP标记的竞争抗原，经过温育并彻底洗涤。用底物TMB显色，TMB在过氧化物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核糖-5-磷酸(R5P)呈负相关。用酶标仪在450nm 波长下测定吸光度 (OD值)，计算样品浓度。
试剂盒组分	<ul style="list-style-type: none">✧ 20×浓缩洗涤液 (25ml×1瓶)✧ 酶标包被板 (12孔×8条)✧ 样品稀释液 (6ml×1瓶)✧ 竞争抗原-HRP (10mL)✧ 底物A (6ml×1瓶)✧ 底物B (6ml×1瓶)✧ 终止液 (6ml×1瓶)✧ 标准品 (S0-S5) 浓度依次为：0、50、100、200、400、800 pg/mL (0.3ml×6瓶)✧ 封板膜 (2张)✧ 密封袋 (1个)

20×洗涤缓冲液的稀释：蒸馏水按 1：20 稀释，即 1 份的 20×洗涤缓冲液加 19 份的蒸馏水。

[操作步骤]

产品说明书

产品编号：NBE-236882

版本号：RN6.0



- (1) 从室温平衡20min后的铝箔袋中取出所需板条，剩余板条用自封袋密封放回4°C。
- (2) 设置标准品孔和样本孔，标准品孔各加不同浓度的标准品50μL；
- (3) 样本孔先加待测样本25μL，再加样本稀释液25μL；空白孔不加。
- (4) 除空白孔外，标准品孔和样本孔中每孔加入辣根过氧化物酶（HRP）标记的竞争抗原50μL，用封板膜封住反应孔，37°C水浴锅或恒温箱温育60min。
- (5) 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5次（也可用洗板机洗板）。
- (6) 每孔加入底物A、B各50μL，37°C避光孵育15min。
- (7) 每孔加入终止液50μL，15min内，在450nm波长处测定各孔的OD值。

[结果计算]

- (1) 15分钟内在波长450nm的酶标仪上读取各孔的OD值；
- (2) 百分结合率计算：设S0管计数为B0，各标准管或样品管计数为B，非特异管计数为NSB，则百分结合率计算公式如下： $B/B_0 = (B - NSB)/(B_0 - NSB) \times 100\%$
- (3) logit计算：各标准点或样品管的logit值计算公式如下： $\text{logit} = \ln(B/B_0)/(1 - B/B_0)$
- (4) 将标准品的OD均值与标准品0点的OD均相除，为标准点的百分结合率，在log-logit坐标纸上绘图。
- (5) Log-logit双对数标准曲线：坐标纸上横轴从左至右第一个1-9表示为第一个10进位，第二个1-9表示为第二个10进位。第三个1-9表示为第三个10进位。坐标纸纵轴为百分比（1-99），即各标准吸光值的百分结合率。取一条通过各点的直线。要求尽可能多的点在线上，同时剩余的点均匀分布在直线的两边。样品也同样由吸光值计算百分结合率，再从纵轴上的相应结合率找到直线上的点，此点对应的横坐标浓度即为样品的浓度，无须换算。
- (6) 人工处理：以标准浓度取log值为横坐标，对应的logit值为纵坐标在普通坐标纸上或以标准浓度为横坐标，对应的B/B0为纵坐标在logit-log坐标纸上画出标准曲线（理想化时是一条直线）。根据待测样品的B/B0可以从坐标纸上查出样品的浓度值。如果使用普通坐标纸，查出的数值应取反对数才是最后的浓度值。
- (7) 自动处理：使用logit-log或四参数数据处理模式，由电脑自动计算得出结果。

[注意事项]

1. 试剂盒保存在 2-8°C，使用前室温平衡 20 分钟。从冰箱取出的浓缩洗涤液会有结晶，这属于正常现象，水浴加热使结晶完全溶解后再使用。
2. 实验中不用的板条应立即放回自封袋中，密封（低温干燥）保存。
3. 浓度为 0 的 S0 号标准品即可视为阴性对照或者空白；按照说明书操作时样本已经稀释 5 倍，最终结果乘以 5 才是样本实际浓度。
4. 严格按照说明书中标明的时间、加液量及顺序进行温育操作。
5. 所有液体组分使用前充分摇匀。