

产品说明书

产品编号: NBE-236834

版本号: RN6.0



产品名称	NebuEasy™ 人高迁移率族蛋白B1(HMGB1)ELISA试剂盒
产品规格	96T
检测范围	0.3pg/mL -20pg/mL
储存条件	4°C保存, 有效期见标签
产品应用	NebuEasy™ 人高迁移率族蛋白B1(HMGB1)ELISA试剂盒 (产品编号: NBE-236834) 可用于测定人血清、血浆及相关液体样本中高迁移率族蛋白 B1 (HMGB-1) 含量。
检测原理	本试剂盒应用双抗体夹心法测定标本中人高迁移率族蛋白 B1 (HMGB-1) 水平。用纯化的人高迁移率族蛋白 B1 (HMGB-1) 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高迁移率族蛋白 B1 (HMGB-1), 再与 HRP 标记的高迁移率族蛋白 B1 (HMGB-1) 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高迁移率族蛋白 B1 (HMGB-1) 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人高迁移率族蛋白 B1 (HMGB-1) 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 (40pg/mL) (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-236834

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	20pg/mL	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	10pg/mL	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	5pg/mL	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	2.5pg/mL	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	1.25pg/mL	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 (48T的20倍) 浓缩洗涤液用蒸馏水30倍 (48T的20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。

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

产品说明书

产品编号: NBE-236834

版本号: RN6.0



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。