

# 产品说明书

产品编号: NBE-236835

版本号: RN6.0



<b>产品名称</b>	NebuEasy™ 载脂蛋白F(APOF)ELISA试剂盒
<b>产品规格</b>	96T
<b>检测范围</b>	0.1 - 12 mg/dL
<b>储存条件</b>	4°C保存, 有效期见标签
<b>产品应用</b>	NebuEasy™ 载脂蛋白F(APOF)ELISA试剂盒 (产品编号: NBE-236835) 可用于测定人血清, 血浆及相关液体样本中载脂蛋白F(APOF)含量。
<b>检测原理</b>	试剂盒采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验 (ELISA)。往预先包被载脂蛋白 F (APOF) 抗体的包被微孔中, 依次加入标本、标准品、HRP标记的检测抗体, 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载脂蛋白F (APOF) 呈正相关。用酶标仪在450nm 波长下测定吸光度 (OD 值), 计算样品浓度。
<b>试剂盒组分</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>◇ 微孔酶标板 12 孔×8 条</li><li>◇ 标准品 0.3mL*6 管 (标准品 (S0-S5) 浓度依次为: 0、0.75、1.5、3、6、12 mg/dL)</li><li>◇ 样本稀释液 6mL</li><li>◇ 检测抗体-HRP 10mL</li><li>◇ 20×洗涤缓冲液 25mL 按说明书进行稀释</li><li>◇ 底物 A 6mL</li><li>◇ 底物 B 6mL</li><li>◇ 终止液 6mL</li><li>◇ 封板膜 2 张</li><li>◇ 说明书 1 份</li><li>◇ 自封袋 1 个</li></ul>

# 产品说明书

产品编号: NBE-236835

版本号: RN6.0



## [操作步骤]

### 1. 样品准备:

- ◇ 血清: 使用不含热原和内毒素的试管, 操作过程中避免任何细胞刺激, 收集血液后, 3000 转离心 10 分钟将血清和红细胞迅速小心地分离。
- ◇ 血浆: EDTA、柠檬酸盐或肝素抗凝。3000 转离心 30 分钟取上清。
- ◇ 细胞上清液: 3000 转离心 10 分钟去除颗粒和聚合物。
- ◇ 组织匀浆: 将组织加入适量生理盐水捣碎。3000 转离心 10 分钟取上清。
- ◇ 保存: 如果样本收集后不及时检测, 请按一次用量分装, 冻存于-20℃, 避免反复冻融, 在室温下解冻并确保样品均匀地充分解冻。

**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 $\mu$ l, 待测样品孔中先加样品稀释液40 $\mu$ l, 然后再加待测样品10 $\mu$ 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℃温育30分钟。

**4. 配液:** 将20倍浓缩洗涤液用蒸馏水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100 $\mu$ 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 $\mu$ l, 再加入显色剂B 50 $\mu$ l, 轻轻震荡混匀, 37℃避光显色10分钟。

**10. 终止:** 每孔加终止液50 $\mu$ 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℃保存, 但应避免反复冻融。另外, 本试剂盒不能检测含NaN<sub>3</sub>的样品, 因NaN<sub>3</sub>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

# 产品说明书

产品编号: NBE-236835

版本号: RN6.0



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。