

产品说明书

产品编号: NBE-236836

版本号: RN6.0



产品名称	NebuEasy™ 小鼠补体片断3b(C3b)ELISA试剂盒
产品规格	96T
检测范围	1 -200ng/mL (最低检测浓度小于 1.0 ng/mL)
储存条件	4°C保存, 有效期见标签
产品应用	NebuEasy™ 小鼠补体片断3b(C3b)ELISA试剂 (产品编号: NBE-236836) 可用于测定小鼠血清, 血浆及相关液体样本中补体片断3b(C3b)的含量。
检测原理	试剂盒采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验 (ELISA)。往预先包被补体片段 3b (C3b) 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补体片段3b (C3b) 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。
试剂盒组分	<ul style="list-style-type: none">◇ 微孔酶标板 12 孔×8 条◇ 标准品 0.3mL*6 管 (标准品 (S0-S5) 浓度依次为: 0、12.5、25、50、100、200 ng/mL)◇ 样本稀释液 6mL◇ 检测抗体-HRP 10mL◇ 20×洗涤缓冲液 25mL 按说明书进行稀释◇ 底物 A 6mL◇ 底物 B 6mL◇ 终止液 6mL◇ 封板膜 2 张◇ 说明书 1 份◇ 自封袋 1 个

[操作步骤]

产品说明书

产品编号: NBE-236836

版本号: RN6.0



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°C, 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 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°C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°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°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

产品说明书

产品编号: NBE-236836

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。