

产品说明书

产品编号: NBE-236849

版本号: RN6.0



产品名称	NebuEasy™ 油菜素内酯 (BR) ELISA试剂盒
产品规格	96T
检测范围	1.0-120 pmol/L
储存条件	4℃保存, 有效期见标签
产品应用	NebuEasy™ 油菜素内酯 (BR) ELISA试剂盒 (产品编号: NBE-236849) 可用于测定样品中的油菜素内酯 (BR) 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)。往预先包被油菜素内酯 (BR) 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油菜素内酯 (BR) 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	◇ 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、0.75、1.5、3、6、12 mg/dL) ◇ 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

产品说明书

产品编号: NBE-236849

版本号: RN6.0



[操作步骤]

样品准备:

- ✧ 样本不能含叠氮钠 (NaN_3)，因为叠氮钠 (NaN_3) 是辣根过氧化物酶 (HRP) 的抑制剂。
- ✧ 标本采集后尽早进行提取，提取按相关文献进行。
- ✧ 植物萃取液或其它相关样本: 请1000 x g离心20分钟，取上清即可检测。
- ✧ 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。

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	200pg/mL	将150 μL 的原始标准品加入150 μL 标准品稀释液
4号标准品	100pg/mL	将150 μL 的5号标准品加入150 μL 标准品稀释液
3号标准品	50pg/mL	将150 μL 的4号标准品加入150 μL 标准品稀释液
2号标准品	25pg/mL	将150 μL 的3号标准品加入150 μL 标准品稀释液
1号标准品	12.5pg/mL	将150 μL 的2号标准品加入150 μL 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 μL ，待测样品孔中先加样品稀释液40 μL ，然后再加待测样品10 μL (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100 μL ，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 μL ，再加入显色剂B 50 μL ，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 μL ，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

产品说明书

产品编号: NBE-236849

版本号: RN6.0



放于-20℃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。