

# 产品说明书

产品编号：NBE-236886

版本号：RN6.0



产品名称 NebuEasy™ 大鼠免疫球蛋白M(IgM)ELISA试剂盒

产品规格 96T

检测范围 0.3ug/mL -18ug/mL

储存条件 4°C保存，有效期见标签

产品应用 NebuEasy™ 大鼠免疫球蛋白M(IgM)ELISA试剂盒（产品编号：NBE-236886）可用于测定大鼠血清、血浆及相关液体样本中免疫球蛋白M(IgM)含量。

检测原理 本试剂盒应用双抗原夹心法测定标本中大鼠免疫球蛋白 M(IgM)水平。用纯化的抗原包被微孔板，制成固相抗原，往包被的微孔中依次加入免疫球蛋白 M(IgM)，再与 HRP 标记的抗原结合，形成抗原-抗体-酶标抗原复合物，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免疫球蛋白 M(IgM)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大鼠免疫球蛋白 M(IgM)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 (24ug/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)

## [操作步骤]

# 产品说明书



产品编号：NBE-236886

版本号：RN6.0

## 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	12ug/mL	将150μl的原始标准品加入150μl标准品稀释液
4号标准品	6ug/mL	将150μl的5号标准品加入150μl标准品稀释液
3号标准品	3ug/mL	将150μl的4号标准品加入150μl标准品稀释液
2号标准品	1.5ug/mL	将150μl的3号标准品加入150μl标准品稀释液
1号标准品	0.75ug/mL	将150μl的2号标准品加入150μl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50μl，待测样品孔中先加样品稀释液40μl，然后再加待测样品10μl（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50μl，空白孔除外。

**7. 温育：** 操作同步步骤3。

**8. 洗涤：** 操作同步步骤5。

**9. 显色：** 每孔先加入显色剂A 50μl，再加入显色剂B 50μl，轻轻震荡混匀，37℃避光显色10分钟。

**10. 终止：** 每孔加终止液50μl，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。

# 产品说明书

产品编号：NBE-236886

版本号：RN6.0



- 
- 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。