

小鼠 β 淀粉样蛋白 40 ($A\beta_{40}$) 酶联免疫吸附测定试剂盒使用说明书

Mouse $A\beta_{40}$ ELISA Kit

产品货号: RJ19938

产品规格: 96T/48T

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签), 以便我们更高效地为您服务。

Email: renjiebio@163.com 主页: <http://www.rjkit.com>

中国 | 上海仁捷生物科技有限公司

地址: 上海市杨浦区铁岭路 32 号 1519- 10 室

- 本试剂盒用于检测小鼠血清、血浆、组织匀浆及相关液体样本中 β 淀粉样蛋白 40 (A β 40) 的含量。

实验原理：

本试剂盒应用双抗体夹心法测定标本中小鼠 β 淀粉样蛋白 40 (A β 40) 水平。用纯化的小鼠 β 淀粉样蛋白 40 (A β 40) 捕获抗体包被微孔板，制成固相抗体，往包被的微孔中依次加入小鼠 β 淀粉样蛋白 40 (A β 40)，再与HRP标记的检测抗体结合，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小鼠 β 淀粉样蛋白 40 (A β 40) 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小鼠 β 淀粉样蛋白 40 (A β 40) 含量。

样本处理及要求：

1. **血清：**将收集于血清分离管的全血标本在室温放置2小时或4℃过夜，然后1000×g离心20 分钟，取上清即可，或将上清置于-20℃或-80℃保存，但应避免反复冻融。
2. **血浆：**用EDGLUA或肝素作为抗凝剂采集标本，并将标本在采集后的30分钟内于2-8℃ 1000×g离心15分钟，取上清即可检测，或将上清置于-20℃或-80℃保存，但应避免反复冻融。
3. **组织匀浆：**用预冷的PBS (0.01M, pH=7.4)冲洗组织，去除残留血液（匀浆中裂解的红细胞会影响测量结果），称重后将组织剪碎。将剪碎的组织与对应体积的PBS（一般按1:9的重量体积比，比如1g的组织样品对应9mL的PBS，具体体积可根据实验需要适当调整，并做好记录。推荐在PBS中加入蛋白酶抑制剂）加入玻璃匀浆器中，于冰上充分研磨。为了进一步裂解组织细胞，可以对匀浆液进行超声破碎，或反复冻融。最后将匀浆液于5000×g离心5~10分钟，取上清检测。
4. **细胞培养物上清或其它生物标本：**请1000×g离心20分钟，取上清即可检测，或将上清置于-20℃或-80℃保存，但应避免反复冻融。

注：标本溶血会影响最后检测结果，因此溶血标本不宜进行此项检测。

需要而未提供的试剂和器材：

1. 酶标仪 (450nm)
2. 高精度加样器及枪头：0.5-10uL、2-20uL、20-200uL、200-1000uL
3. 37℃恒温箱
4. 蒸馏水或去离子水

试剂盒组成：

试剂盒组成	48 孔配置	96 孔配置	保存
说明书	1 份	1 份	
封板膜	2 片	2 片	
密封袋	1 个	1 个	
酶标包被板	1×48	1×96	2-8℃ 保存
标准品	0.3ml×6 管	0.3ml×6 管	2-8℃ 保存
酶标试剂	5 ml×1 瓶	10 ml×1 瓶	2-8℃ 保存
样品稀释液	3 ml×1 瓶	6 ml×1 瓶	2-8℃ 保存
显色剂 A 液	3 ml×1 瓶	6 ml×1 瓶	2-8℃ 保存
显色剂 B 液	3 ml×1 瓶	6 ml×1 瓶	2-8℃ 保存
终止液	3 ml×1 瓶	6 ml×1 瓶	2-8℃ 保存
20×浓缩洗涤液	15ml×1 瓶	25ml×1 瓶	2-8℃ 保存

注：标准品浓度依次为：1200、600、300、150、75、0pg/mL.

注意事项：

1. 严格按照规定的时间和温度进行温育以保证准确结果。所有试剂都必须在使用前达到室温 20-25℃。使用后立即冷藏保存试剂。
2. 洗板不正确可以导致不准确的结果。在加入底物前确保尽量吸干孔内液体。温育过程中不要让微孔干燥掉。
3. 消除板底残留的液体和手指印，否则影响 OD 值。
4. 底物显色液应呈无色或很浅的颜色，已经变蓝的底物液不能使用。
5. 避免试剂和标本的交叉污染以免造成错误结果。
6. 在储存和温育时避免强光直接照射。
7. 平衡至室温后再打开密封袋以防水滴凝聚在冷板条上。
8. 任何反应试剂不能接触漂白溶剂或漂白溶剂所散发的强烈气体。任何漂白成分都会破坏试剂盒中反应试剂的生物活性。
9. 不能使用过期产品。
10. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。

试剂准备：

试剂盒从冷藏环境中取出应在室温平衡后方可使用。

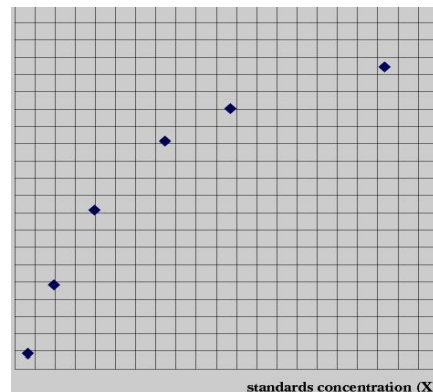
20×洗涤缓冲液的稀释：蒸馏水按1：20稀释，即1份20×洗涤缓冲液加19份蒸馏水。

操作步骤：

1. 标准品的加样：设置标准品孔和样本孔，标准品孔各加不同浓度的标准品 50 μ L；。
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）、待测样品孔。在酶标包被板上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，尽量不触及孔壁，轻轻晃动混匀。
3. 加酶：每孔加入酶标试剂 100 μ L，空白孔除外。
4. 温育：用封板膜封板后置 37℃温育 60 分钟。
5. 配液：将 20 倍浓缩洗涤液用蒸馏水 20 倍稀释后备用。
6. 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。
7. 显色：每孔先加入显色剂 A50 μ L，再加入显色剂 B50 μ L，轻轻震荡混匀，37℃避光显色 15 分钟。
8. 终止：每孔加终止液 50 μ L，终止反应（此时蓝色立转黄色）。
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。

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。



（此图仅供参考）

试剂盒性能：

1. 样品线性回归与预期浓度相关系数 R 值为 0.95 以上。
2. 批内变异系数与批间变异系数应分别小于 10%和 15%。

检测范围：

37.5 pg/mL – 1200 pg/mL

灵敏度：

最低检测浓度小于 1.0 pg/mL

保存条件及有效期：

1. 试剂盒保存： 2-8℃。
2. 有效期： 6 个月