

## 人中性粒细胞弹性蛋白酶-DNA复合物 (NE-DNA) ELISA KIT

英文名称: Human (NE-DNA) ELISA KIT

规格: 96T

货号: NLH7952

### 尊敬的客户:

感谢您选用本公司 ELISA 系列产品。本产品选用世界著名生产厂家的原料，采用专业体外诊断试剂生产技术制造，仅供科研使用。本试剂盒用于测定测定人血清、血浆及相关液体样本中人中性粒细胞弹性蛋白酶-DNA 复合物 (NE-DNA)含量。具体适用样本请咨询。使用前请仔细阅读说明书并检查试剂组分。如有疑问，请咨询： 武汉纽莱生物科技有限公司 Email:sale@newlif.com.cn 电话: 18674031376

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断。

## 实验原理

本试剂盒应用双抗体夹心法测定标本中人中性粒细胞弹性蛋白酶-DNA 复合物(NE-DNA)水平。用纯化的人中性粒细胞弹性蛋白酶-DNA 复合物(NE-DNA)抗体包被微孔板，制成固相抗体，往包被单抗的微孔中依次加入中性粒细胞弹性蛋白酶-DNA 复合物(NE-DNA)，再与 HRP 标记的中性粒细胞弹性蛋白酶-DNA 复合物(NE-DNA)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中性粒细胞弹性蛋白酶-DNA 复合物(NE-DNA)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人中性粒细胞弹性蛋白酶-DNA 复合物(NE-DNA)浓度。

**用途：人中性粒细胞弹性蛋白酶-DNA 复合物(NE-DNA)水平。**

## 基本性能：

性能	
灵敏度	1.25ng/L
检测范围	5ng/L -280ng/L
特异性	可检测人血清、血浆及相关液体样本中人中性粒细胞弹性蛋白酶-DNA 复合物(NE-DNA)含量。且与其他类似物无明显交叉反应
重复性	板内，板间变异系数均《 10%

## 试剂盒组成及保存

中文名称	规格	开封后保存条件
ELISA 酶标板	96T: 8 孔×12 条 48T: 8 孔×6 条	2-8℃ 90天
标准品	96T: 0.5mlx1 (480ng/L) 48T: 0.25mlx1	2-8℃ 90天
HRP标记抗体	96T: 6mlx1 48T: 3mlx1	2-8℃ 90天
样品稀释液	96T: 6mlx1 48T: 3mlx1	2-8℃ 180天
标准品稀释液	96T: 1.5mlx1 48T: 1mlx1	2-8℃ 180天
显色剂A	96T: 6mlx1 48T: 3mlx1	2-8℃(避光) 180天
显色剂B	96T: 6mlx1 48T: 3mlx1	2-8℃(避光) 180天
终止液	96T: 6mlx1 48T: 3mlx1	2-8℃ 180天 180天
30倍浓缩洗涤液	96T: 20mlx1 48T: 10mlx1	2-8℃ 180天 180天
说明书	1份	
封板膜	2张	
密封袋	1个	

说明；未拆封的试剂盒可以在2-8℃ 保存六个月

## 试剂盒所需自备物品

1. 酶标仪(450nm波长滤光片)
2. 高精度移液器, EP管及一次性吸头: 0.5-10μ L, 2-20μ L, 20-200μ L, 200-1000μ L
3. 37℃恒温箱
4. 双蒸水或去离子水
5. 吸水纸
6. 加样槽

## 样品收集方法 (具体处理方法请咨询)

- 1. 血清:** 用无菌管收集, 室温血液自然凝固10-20分钟, 2-8°C条件离心20分钟左右 (2000-3000转/分) 仔细收集上清, 保存过程中如出现沉淀, 应再次离心。
- 2. 血浆:** 应根据标本的要求选择EDTA、肝素钠或柠檬酸钠作为抗凝剂, 混合10-20分钟后, 2-8°C条件离心20分钟左右 (2000-3000转/分), 仔细收集上清, 保存过程中如有沉淀形成应该再次离心。
- 3. 尿液:** 用无菌管收集, 2-8°C条件离心20分钟左右 (2000-3000转/分)。仔细收集上清, 保存过程中如有沉淀形成, 应再次离心。
- 4. 组织匀浆:** 用预冷的PBS (0.01M, pH =7.4)冲洗组织, 去除残留血液, 称重后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1 g的组织样品对应9 mL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, 在冰上充分研磨。为了进一步裂解组织细胞, 可以对匀浆液进行反复冻融或超声破碎。最后将匀浆液于2-8°C, 5000×g 离心5-10分钟取上清检测。
- 5. 细胞提取液:** 贴壁细胞用冷的PBS轻轻清洗, 然后用胰蛋白酶消化, 1000×g离心5分钟后收集细胞。悬浮细胞可直接离心收集。收集的细胞用冷的PBS洗涤3次。每10<sup>6</sup>个细胞中加入150-200 μL PBS重悬 (推荐在PBS 中加入蛋白酶抑制剂; 若含量很低可减少PBS的体积)并通过反复冻融或超声使细胞破碎。将提取液于2-8°C, 1500×g离心10分钟, 取上清检测。
- 6. 细胞培养上清或其他生物体液:** 收集液体后于2-8°C, 1000×g离心20分钟, 除去杂质及细胞碎片, 取上清检测。

## 试剂盒注意事项

1. 试剂盒从冷藏环境中取出应在室温平衡 15-30 分钟后方可使用, 酶标包被板开封后如未用完, 板条应装入密封袋中保存。
2. 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。
3. 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。
4. 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 (n×5)
5. 封板膜只限一次性使用, 以避免交叉污染。
6. 底物请避光保存。
7. 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。
8. 所有样品, 洗涤液和各种废弃物都应按传染物处理。
9. 本试剂不同批号组分不得混用。

## 样本收集注意事项

- 1.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.标本采集后尽快进行实验，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。
- 3.我们罗列的是通用的样本处理方法，无法涵盖各种样本，对于一些特殊样本，建议实验人员多参考已发表的文献，自行设计合理的样本处理方法。

## 检测前准备工作

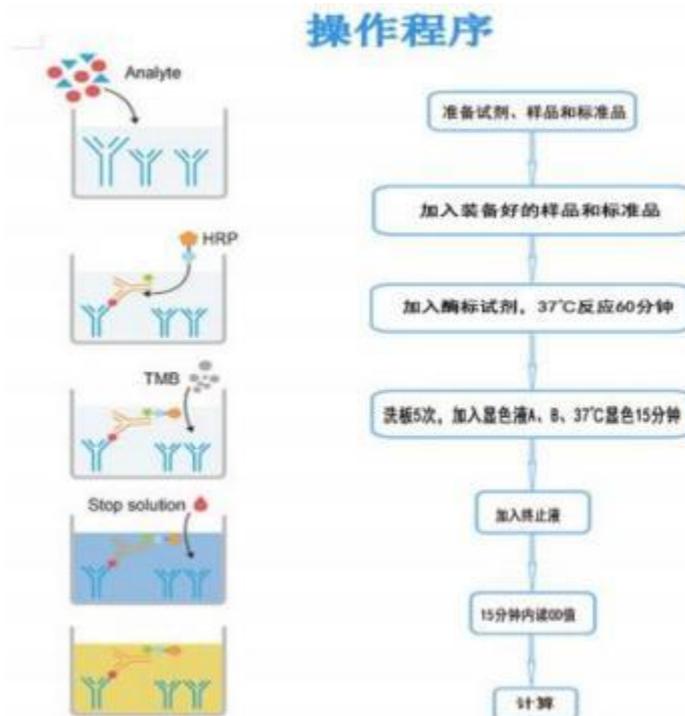
- 1.请提前20分钟从冰箱中取出试剂盒，以平衡至室温。
- 2.用双蒸水将30×浓缩洗涤液稀释成1×工作液。未用完的放回4℃。
- 3.标准品的稀释：本试剂盒提供原倍标准品一支，用户可按照下列图表在小试管中进行稀释。

240ng/L	5号标准品	150μl 的原倍标准品加入 150μl 标准品稀释液
120ng/L	4号标准品	150μl 的 5 号标准品加入 150μl 标准品稀释液
60ng/L	3号标准品	150μl 的 4 号标准品加入 150μl 标准品稀释液
30ng/L	2号标准品	150μl 的 3 号标准品加入 150μl 标准品稀释液
15ng/L	1号标准品	150μl 的 2 号标准品加入 150μl 标准品稀释液

## 操作步骤

- 1.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, 尽量不触及孔壁, 轻轻晃动混匀。
- 2.温育: 用封板膜封板后置 37 $^{\circ}$ C 温育 30 分钟。
- 3.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。
- 4.加酶: 每孔加入酶标试剂 50 $\mu$ l, 空白孔除外。
- 5.温育: 操作同 2
- 6.洗涤: 操作同 3
- 7.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 $^{\circ}$ C 避光显色 10 分钟。
- 8.终止: 每孔加终止液 50 $\mu$ l, 终止反应 (此时蓝色立转黄色)。
- 9.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。

## 操作一览表



### 结果判断:

- 1.每个标准品和标本的OD 值应减去空白孔的OD 值。
- 2.以标准品的浓度为横坐标，OD 值为纵坐标，利用计算机软件采用直线回归的拟合方法创建标准曲线方程，通过样本的吸光度（OD值），利用方程计算样品的浓度值。
- 3.若样本的OD值高于标准曲线上限，应适当稀释后重测，计算浓度时应乘以稀释倍数。

### 典型数据

由于实验操作条件的不同（如操作者、移液技术、洗板技术和稳定条件等），标准曲线的OD值会有所差异。详情请看质检报告。