

## 人巴尔通体抗体 (Bar Ab) ELISA KIT

英文名称: Human (Bar Ab) ELISA KIT

规 格: 96T

货 号: NLH4039-1

### 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。本试剂盒用于测定人血清，血浆及相关液体样本中巴尔通体抗体 (BarAb) 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

本试剂盒应用双抗原夹心法测定标本中人巴尔通体抗体(BarAb)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巴尔通体抗体(BarAb)，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巴尔通体抗体(BarAb)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巴尔通体抗体(BarAb)浓度。

**用途：**本试剂盒用于测定人血清、血浆及相关液体样本中 巴尔通体抗体(BarAb)浓度。含量。

## 基本性能：

| 性能   |                                                    |
|------|----------------------------------------------------|
| 灵敏度  | 0.4pg/ml                                           |
| 检测范围 | 1.6pg/mL-65pg/mL                                   |
| 特异性  | 可检测人血清、血浆及相关液体样本中人巴尔通体抗体(BarAb)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<br>48T: 8 孔×6 条            | 2-8℃ 90天       |
| 标准品       | 96T: 0.5mlx1 (120pg/ml)<br>48T: 0.25mlx1 | 2-8℃ 90天       |
| HRP标记抗体   | 96T: 6mlx1<br>48T: 3mlx1                 | 2-8℃ 90天       |
| 样品稀释液     | 96T: 6mlx1<br>48T: 3mlx1                 | 2-8℃ 180天      |
| 标准品稀释液    | 96T: 1.5mlx1<br>48T: 1mlx1               | 2-8℃ 180天      |
| 显色剂A      | 96T: 6mlx1<br>48T: 3mlx1                 | 2-8℃(避光) 180天  |
| 显色剂B      | 96T: 6mlx1<br>48T: 3mlx1                 | 2-8℃(避光) 180天  |
| 终止液       | 96T: 6mlx1<br>48T: 3mlx1                 | 2-8℃ 180天 180天 |
| 30倍浓缩洗涤液  | 96T: 20mlx1<br>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℃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℃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℃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℃，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℃，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℃，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

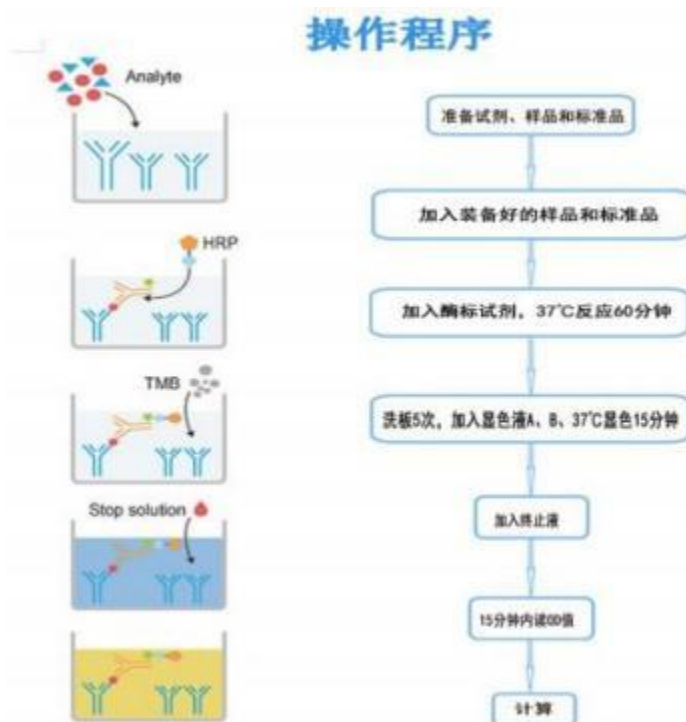
- 1.请提前20分钟从冰箱中取出试剂盒，以平衡至室温。
- 2.用双蒸水将30×浓缩洗涤液稀释成1×工作液。未用完的放回4℃。
- 3.标准品的稀释：本试剂盒提供原倍标准品一支，用户可按照下列图表在小试管中进行稀释。

|           |       |                               |
|-----------|-------|-------------------------------|
| 60pg/mL   | 5号标准品 | 150μl 的原倍标准品加入 150μl 标准品稀释液   |
| 30pg/ml   | 4号标准品 | 150μl 的 5 号标准品加入 150μl 标准品稀释液 |
| 15pg/ml   | 3号标准品 | 150μl 的 4 号标准品加入 150μl 标准品稀释液 |
| 7.5pg/ml  | 2号标准品 | 150μl 的 3 号标准品加入 150μl 标准品稀释液 |
| 3.75pg/ml | 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.