

本试剂盒只能用于科学研究，不得用于医学诊断

植物 (Plant) 红花菜豆酸 (Phaseic acid)

ELISA 检测试剂盒

使用说明书

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)。预先包被红花菜豆酸 (Phaseic acid) 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红花菜豆酸 (Phaseic acid) 呈正相关。用酶标仪在450nm 波长下测定吸光度 (OD 值)，计算样品活性。

样品收集、处理及保存方法

1. 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。

2. 标本采集后尽早进行提取，提取按相关文献进行。

3. 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。

4. 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。

自备物品

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°C 恒温箱

操作注意事项

1. 试剂盒保存在 $2-8^{\circ}\text{C}$ ，使用前室温平衡20分钟。从冰箱取出的浓缩洗涤液会有结晶，这属于正常现象，水浴加热使结晶完全溶解后再使用。

2. 实验中不用的板条应立即放回自封袋中，密封 (低温干燥) 保存。

3. 浓度为0的S0号标准品即可视为阴性对照或者空白；按照说明

书操作时样本已经稀释 5 倍，最终结果乘以 5 才是样本实际浓度。

- 4. 严格按照说明书中标明的时间、加液量及顺序进行温育操作。
- 5. 所有液体组分使用前充分摇匀。

试剂盒组成

名称	96 孔配置	48 孔配置	备注
微孔酶标板	12 孔×8 条	12 孔×4 条	无
标准品	0.3mL*6 管	0.3mL*6 管	无
样本稀释液	6mL	3mL	无
检测抗体-HRP	10mL	5mL	无
20×洗涤缓冲液	25mL	15mL	按说明书进行稀释
底物 A	6mL	3mL	无
底物 B	6mL	3mL	无
终止液	6mL	3mL	无
封板膜	2 张	2 张	无
说明书	1 份	1 份	无
自封袋	1 个	1 个	无

注：标准品（S0-S5）浓度依次为：0、2、4、8、16、32ng/mL。上海轩泽康生物有限公司提供。

试剂的准备

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

洗板方法

- 1. 手工洗板：甩尽孔内液体，每孔加满洗涤液，静置 1min 后甩尽孔内液体，在吸水纸上拍干，如此洗板 5 次。
- 2. 自动洗板机：每孔注入洗液 350 μL，浸泡 1min，洗板 5 次。

操作步骤

- 1. 从室温平衡 20min 后的铝箔袋中取出所需板条，剩余板条用自封袋密封放回 4℃。
- 2. 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 μL；
- 3. 样本孔先加待测样本 10 μL，再加样本稀释液 40 μL；空白孔不加。
- 4. 除空白孔外，标准品孔和样本孔中每孔加入辣根过氧化物酶（HRP）标记的检测抗体 100 μL，用封板膜封住反应孔，37℃水浴锅或恒温箱温育 60min。
- 5. 弃去液体，吸水纸上拍干，每孔加满洗涤液，静置 1min，甩去洗涤液，吸水纸上拍干，如此重复洗板 5 次（也可用洗板机洗板）。

6. 每孔加入底物 A、B 各 50 μ L, 37℃ 避光 孵育 15min。
7. 每孔加入终止液 50 μ L, 15min 内, 在 450nm 波长处测定各孔的 OD 值。

结果判断

绘制标准曲线：在 Excel 工作表中，以标准品浓度作横坐标，对应 OD 值作纵坐标，绘制出标准品线性回归曲线，按曲线方程计算各样本浓度值。

试剂盒性能

1. 准确性：标准品线性回归与预期浓度相关系数 R 值，大于等于 0.9900。
2. 灵敏度：最低检测浓度小于 1.0ng/mL。
3. 检测范围 0.5–32ng/mL。
4. 特异性：不与其它可溶性结构类似物交叉反应。
5. 重复性：板内、板间变异系数均小于 15%。
6. 贮藏：2–8℃，避光防潮保存。
7. 有效期：6 个月

免责声明

1. 试剂盒仅供研究使用，不得用于临床实验或人体实验，否则所产生的一切后果，由实验者承担，本公司概不负责。
2. 严格按照说明书操作，实验者违反说明书操作，后果由实验者

承担。