

## Mouse ApoB (Apolipoprotein B) ELISA Kit

### 小鼠载脂蛋白 B (ApoB) ELISA 试剂盒

#### 产品简介

本试剂盒采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验 (ELISA)，用于体外定量检测小鼠血清、血浆、组织匀浆及相关液体样本中载脂蛋白 B (ApoB) 的含量。需要往预先包被小鼠载脂蛋白 B (ApoB) 捕获抗体的包被微孔中，依次加入标本、标准品、HRP 标记的检测抗体，经过孵育并彻底洗涤。再用底物四甲基联苯胺 (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大鼠载脂蛋白 B (ApoB) 呈正相关，用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度 (OD 值)，计算样品浓度。

翌圣生物提供大鼠载脂蛋白 B (ApoB) ELISA 试剂盒 (60411ES)、小鼠载脂蛋白 B (ApoB) ELISA 试剂盒 (60412ES) 和人载脂蛋白 B (ApoB) ELISA 试剂盒 (60413ES)。

#### 产品信息

货号	60412ES48/60412ES59
规格	48 T/96 T
检测时长	1.5 h
检测范围	37.5 $\mu\text{g/mL}$ - 1200 $\mu\text{g/mL}$
灵敏度	最低检测浓度小于 1.0 $\mu\text{g/mL}$
板内变异系数	小于 10%
板间变异系数	小于 15%

#### 组分信息

组分编号	组分名称	48 T	96 T
60412ES-A	微孔酶标板	12 孔 x 4 条	12 孔 x 8 条
60412ES-B	标准品	0.3 mL x 6 管	0.3 mL x 6 管
60412ES-C	样本稀释液	3 mL	6 mL
60412ES-D	检测抗体-HRP	5 mL	10 mL
60412ES-E	20x 洗涤缓冲液	15 mL	25 mL
60412ES-F	底物 A	3 mL	6 mL
60412ES-G	底物 B	3 mL	6 mL
60412ES-H	终止液	3 mL	6 mL
60412ES-I	封板膜	2 张	2 张
60412ES-J	自封袋	1 个	1 个

#### 备注：

- 标准品浓度依次为：1200、600、300、150、75、37.5  $\mu\text{g/mL}$ 。
- 已经过大量正常标本检验，标本的正常浓度值均在试剂盒提供的检测范围内，实验过程中直接取 50  $\mu\text{L}$  样本上样即可。当有部分样本值超过最大标准品浓度时，可用样本稀释液将标本进行适当稀释后再进行实验。

## 储存条件

2~8℃保存，有效期6个月。

## 使用说明

### 1. 样本处理及要求

#### 1.1 血清

将收集于血清分离管的全血标本在室温放置2 h或4℃过夜，然后1000 g离心20 min，取上清即可，或将上清置于-20℃或-80℃保存，但应避免反复冻融。

#### 1.2 血浆

用EDTA或肝素作为抗凝剂采集标本，并将标本在采集后的30 min内于2~8℃1000 g离心15 min，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。

#### 1.3 组织匀浆

用预冷的PBS (0.01 M, 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，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 min，取上清检测。

#### 1.4 细胞培养物上清或其它生物标本

1000 g离心20 min，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。

### 2. 需要的试剂和器材

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

### 3. 试剂准备

所有试剂都必须在使用前达到室温，使用后需立即冷藏保存试剂。

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。

### 4. 使用方法

4.1 从室温平衡20 min后从铝箔袋中取出所需板条，剩余板条用自封袋密封放回4℃。

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；

4.3 样本孔中加入待测样本50 μL；空白孔不加。

4.4 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60 min。

4.5 弃去液体，吸水纸上拍干，每孔加满洗涤液（350 μL），静置1 min，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）。

4.6 每孔加入底物A、B各50 μL，37℃避光孵育15 min。

4.7 每孔加入终止液50 μL，15 min内，在450 nm波长处测定各孔的OD值。

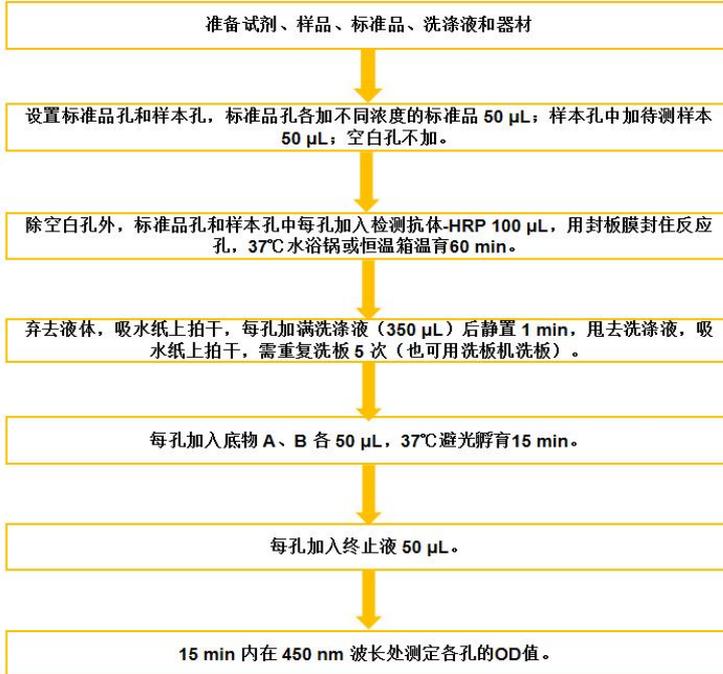
### 5. 实验结果计算

以所测标准品的OD值为横坐标，标准品的浓度值为纵坐标，在坐标纸上或用相关软件绘制标准曲线，并得到直线回归方程，将样品的OD值代入方程，计算出样品的浓度。

### 6. 试剂盒性能

- 6.1 检测范围：37.5  $\mu\text{g/mL}$  - 1200  $\mu\text{g/mL}$ 。
- 6.2 灵敏度：最低检测浓度小于 1.0  $\mu\text{g/mL}$ 。
- 6.3 特异性：不与其他可溶性结构类似物交叉反应。
- 6.4 重复性：板内变异系数小于 10%，板间变异系数小于 15%。

## 7. 操作总结



## 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°C，使用后立即冷藏保存试剂。
2. 洗板不正确可能会导致不准确的结果。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. 需要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. 使用化学裂解液制备的组织匀浆或细胞提取液可能会由于某些化学物质的引入导致 ELISA 实验结果偏差。
10. 若样本为细胞培养上清，因该类样本干扰因素较多，如：细胞状态、细胞数量、采样时间等，所以可能存在检测不出的情况。
11. 某些天然蛋白或重组蛋白，包括原核及真核重组蛋白，可能因为与本产品所使用的检测抗体及捕获抗体不匹配，而不被检测出。
12. 只有全部使用本试剂盒配套试剂才能保证检测效果，不能混用其他制造商的产品。
13. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
14. 本产品仅作科研用途！