

Rat ApoB (Apolipoprotein B) ELISA Kit

大鼠载脂蛋白 B (ApoB) ELISA 试剂盒

产品简介

本试剂盒通过竞争法测定样本中载脂蛋白 B (ApoB) 的浓度。首先, 将样本加入到预先涂有特异性抗体的酶标孔中, 随后加入生物素标记的抗原。在 37°C 下孵育 30 min, 样本中的 ApoB 抗原与生物素标记的抗原会竞争性地结合固相抗体, 形成免疫复合物。孵育完成后, 用 PBST 缓冲液洗涤, 去除未结合的生物素标记抗原。接着加入亲和素-辣根过氧化物酶 (HRP) 复合物, 再次在 37°C 孵育 30 min, 使亲和素-HRP 与生物素标记的抗原结合。洗涤后, 加入四甲基联苯胺 (TMB) 底物, 结合的 HRP 会催化 TMB 显色, 呈现蓝色。在酸的作用下, 蓝色转变为黄色, 该黄色产物在 450 nm 波长处有吸收峰。最终, 通过测定吸光值来反映样本中 ApoB 的浓度, 吸光值与 ApoB 浓度呈负相关。

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	60411ES48/60411ES96
规格	48 T/96 T
检测时长	1.5 h
检测范围	2 μg/mL - 600 μg/mL
板内差	小于 10%
板间差	小于 12%

组分信息

组分编号	组分名称	48 T	96 T	储存条件	备注
60411ES-A	酶标板	1×48	1×96	-25~-15°C	Part1
60411ES-B	标准品 (冻干粉)	2 支 (1 支加 150 μL 标准品稀释液溶解)	2 支 (1 支加 150 μL 标准品稀释液溶解)	2~8°C	Part2
60411ES-C	标准品/样品稀释液 (0.05 M 的 PBS)	3 mL	6 mL	2~8°C	
60411ES-D	浓缩生物素抗原 (冻干粉)	1 支	1 支	-25~-15°C	Part1
60411ES-E	浓缩亲和素-HRP	50 μL	100 μL	-25~-15°C	Part1
60411ES-F	生物素抗原稀释液	3 mL	6 mL	2~8°C	Part2
60411ES-G	亲和素-HRP 稀释液	2.9 mL	5.9 mL	2~8°C	
60411ES-H	显色剂 A 液	3 mL	6 mL	2~8°C	
60411ES-I	显色剂 B 液	3 mL	6 mL	2~8°C	
60411ES-J	终止液 (2 M 的 H ₂ SO ₄ , 需小心开启)	3 mL	6 mL	2~8°C	
60411ES-K	浓缩洗涤液 (含 0.15% 吐温-20 的 PBST)	20 mL (25X)	20 mL (25X)	2~8°C	
60411ES-L	封板膜	2 片 (48)	2 片 (96)	2~8°C	

60411ES-M	密封袋	1 个	1 个	2~8°C	
-----------	-----	-----	-----	-------	--

备注:

- 1) 浓缩洗涤液在低温下会有少量盐类析出, 稍微加温后即会消失, 不影响使用。
- 2) 酶标板为真空包装, 板条可以拆卸, 拆开以后如一次不能用完, 可放入提供的密封袋中, 放入干燥剂, 2~8°C保存, 在一个月之内仍然有效。
- 3) 试剂不能反复冻融。

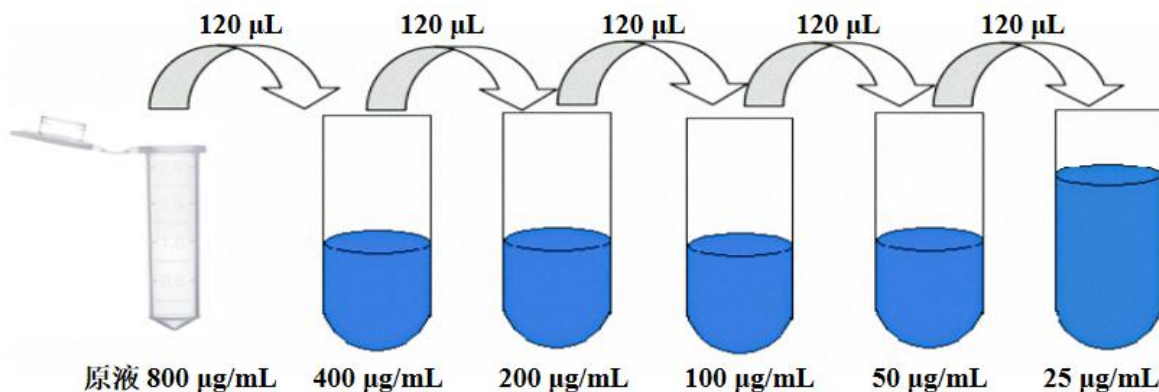
储存条件

2~8°C保存, 有效期 6 个月。

使用说明

1. 试剂准备

- 1) 使用前所有试剂应置于室温平衡至少 30 min。
- 2) 本试剂盒可以直接加样, 如浓度过高, 可以进行适当比例的稀释, 计算时应将结果乘以稀释的倍数, 建议先做预实验, 以确定稀释倍数(以样本测定值在标曲范围内为准)。
- 3) 洗涤液为 25 倍浓缩液, 使用前需将所有洗涤液倒入 500 mL 或 1 L 的烧杯中, 用双蒸水定容到 500 mL 即为工作液, 或可按比例 1:24 配制需要量。
- 4) 标准品的稀释: 每支标准品加 150 μ L 标准品稀释液到标准品干粉管中, 然后漩涡混匀 30s, 充分溶解, 避免气泡, 即为 800 μ g/mL 的标准品原液(24h 内用完)。取 5 支干净的 EP 管, 每管加 120 μ L 的标准品稀释液, 分别标记上 400 μ g/mL, 200 μ g/mL, 100 μ g/mL, 50 μ g/mL, 25 μ g/mL。取 120 μ L 标准品原液加入标记 400 μ g/mL 的管中, 混匀后同样取出 120 μ L, 加入下一管, 以此类推直至最后一管。



- 5) 生物素抗原的稀释: 将浓缩生物素抗原(冻干粉)低速(2000-4000 转/分钟)离心(2-5 min), 然后抽取生物素抗原稀释液 1 mL 到浓缩型生物素抗原(冻干粉)中, 漩涡混匀 15s, 至冻干粉完全溶解, 然后将所有液体倒入稀释液瓶中, 漩涡混匀后即为生物素抗原工作液(一周内用完)。
- 6) 亲和素-HRP 的稀释: 将亲和素-HRP 低速(2000-4000 转/分钟)离心(2-5 min), 使浓缩液全部沉到管底, 将浓缩亲和素-HRP 全部转移到稀释液瓶中, 漩涡混匀后即为亲和素-HRP 工作液(一周内用完)。

2. 样本前处理

标本采集后尽早进行提取, 提取按相关文献进行, 提取后应尽快进行实验。若不能马上进行试验, 可将标本放于-25~-15°C保存, 但应避免反复冻融。

1) 血清

室温血液自然凝固 10-20 min, 2000-3000 转/分, 离心 20 min 左右。仔细收集上清, 保存过程中如出现沉淀, 应再次离心。

2) 血浆

根据标本的要求选择 EDTA 或柠檬酸钠作为抗凝剂，混合 10-20 min 后，2000-3000 转/分，离心 20 min 左右。仔细收集上清，保存过程中如有沉淀形成，应再次离心。

3) 尿液

用无菌管收集，2000-3000 转/分，离心 20 min 左右。仔细收集上清，保存过程中如有沉淀形成，应再次离心。胸腹水、脑脊液参照实行。

4) 细胞培养上清

检测分泌性的成份时，用无菌管收集。2000-3000 转/分，离心 20 min 左右。仔细收集上清。检测细胞内的成份时，用 PBS (pH 7.2-7.4) 稀释细胞悬液，细胞浓度达到 100 万/mL 左右。通过反复冻融，以使细胞破坏并放出细胞内成份。2000-3000 转/分，离心 20 min 左右。仔细收集上清。保存过程中如有沉淀形成，应再次离心。

5) 组织标本

切割标本后，用液氮迅速冷冻保存备用。标本融化后仍然保持 2~8°C 的温度。按重量体积比 1 g:9 mL 的比例加入 9 倍体积的 PBS (pH 7.4, 41403ES)，用手工或匀浆器将标本匀浆充分。2000-3000 转/分，离心 20 min 左右。仔细收集上清。分装后一份待检测，其余冷冻备用。

3. 洗板方法

1) 手工洗板：先用洗去酶标孔中的的液体，倒扣在吸水纸上拍干，然后每孔加入 300 μ L 稀释好的洗涤液，轻轻摇晃 30s，然后甩掉，在吸水纸上拍干，重复 4-5 次。

2) 洗板机洗板：洗板机洗板比较便捷，但应操作熟练后使用。

4. 详细操作程序

1) 使用前将试剂盒在室温下平衡半小时。

2) 空白孔：空着先不加（只在最后和其它孔一起加显色剂 A、B 和终止液用于调零）。

3) 标准品孔：每孔加入稀释好各浓度的标准品 50 μ L，然后加入生物素抗原工作液 50 μ L。

4) 零孔：加入标准品稀释液 50 μ L，然后加入生物素抗原工作液 50 μ L。

5) 样品孔：加入样品 50 μ L，然后加入生物素抗原工作液 50 μ L。

6) 轻轻摇晃，盖上封板膜，37°C 培养箱中孵育 30 min。

7) 将 25 倍浓缩洗涤液用蒸馏水 25 倍稀释后备用。

8) 第一次洗涤：小心揭掉封板膜，弃去液体，甩干，每孔加满洗涤液，静置 30s 后弃去，如此重复 5 次，拍干。

9) 加入 50 μ L 亲和素-HRP 工作液到零孔、标准品孔和样品孔中，轻轻摇晃，盖上封板膜，37°C 培养箱中孵育 30 min。

10) 第二次洗涤：小心揭掉封板膜，弃去液体，甩干，每孔加满洗涤液，静置 30s 后弃去，如此重复 5 次，拍干。

11) 显色：每孔先加入显色剂 A 50 μ L，再加入显色剂 B 50 μ L，酶标板覆膜，轻轻震荡混匀，37°C 避光显色 10 min 左右。

提示：注意不定时观察孔板，根据每孔显色情况酌情缩短或延长孵育时间，但不可超过 30 min。当标准孔出现明显梯度时（前 4 个孔出现明显蓝色梯度），即可终止。

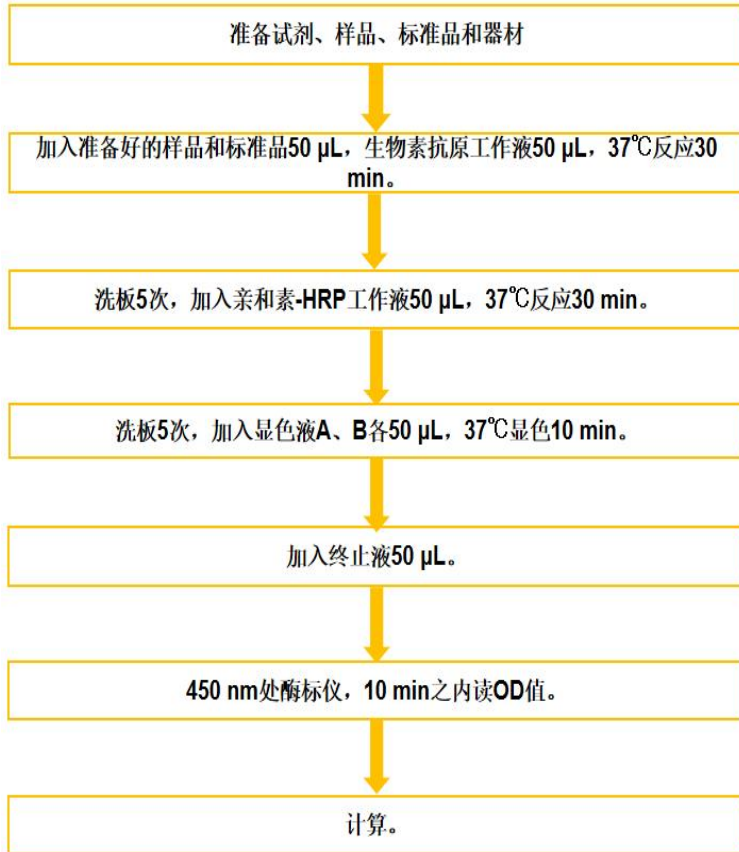
12) 终止：每孔加入终止液 50 μ L。（注：终止液的加入顺序应尽量与显色液的加入顺序相同）

13) 测定：以空白孔调零孔，在酶标仪 450 nm 波长依序测量各孔的吸光度（OD 值）。测定应在加终止液后 10 min 以内进行。

14) 计算：根据浓度和 OD 值算出标准曲线的回归方程，建议用专用计算软件进行计算。

浓度	Blank	S5	S4	S3	S2	S1	S0
OD 值	VB	V5	V4	V3	V2	V1	V0
校准值	VB-VB	V5-VB	V4-VB	V3-VB	V2-VB	V1-VB	V0-VB

5. 操作总结



注意事项

1. 请勿将本试剂盒的试剂与其他公司的试剂混用以影响实验结果。
2. 需要消除板底残留的液体和手指印, 否则影响 OD 值。
3. 避免试剂和标本的交叉污染以免造成错误结果。
4. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
5. 本产品仅作科研用途!

相关产品推荐

产品	货号	规格
PBS (1 \times) 细胞培养级	41403ES	500 mL
PBS (10 \times) 细胞培养级	41404ES	500 mL
10 \times PBST 缓冲液	60146ES	500 mL/500 mL \times 2