

Human ApoB (Apolipoprotein B) ELISA Kit

人载脂蛋白 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	60413ES48/60413ES59
规格	48 T/96 T
检测时长	1.5 h
检测范围	1 ng/mL - 300 ng/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
60413ES-A	酶标板	1×48	1×96	-25~-15°C	Part1
60413ES-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
60413ES-C	标准品/样品稀释液(0.05 M 的 PBS)	3 mL	6 mL	2~8°C	
60413ES-D	浓缩生物素抗原(冻干粉)	1支	1支	-25~-15°C	Part1
60413ES-E	浓缩亲和素-HRP	50 μL	100 μL	-25~-15°C	Part1
60413ES-F	生物素抗原稀释液	3 mL	6 mL	2~8°C	Part2
60413ES-G	亲和素-HRP 稀释液	2.9 mL	5.9 mL	2~8°C	
60413ES-H	显色剂 A 液	3 mL	6 mL	2~8°C	
60413ES-I	显色剂 B 液	3 mL	6 mL	2~8°C	
60413ES-J	终止液(2 M 的 H ₂ SO ₄ , 需小心开启)	3 mL	6 mL	2~8°C	
60413ES-K	浓缩洗涤液(含 0.15% 吐温-20 的 PBST)	20 mL (25X)	20 mL (25X)	2~8°C	
60413ES-L	封板膜	2片(96)	2片(96)	2~8°C	

60413ES-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。

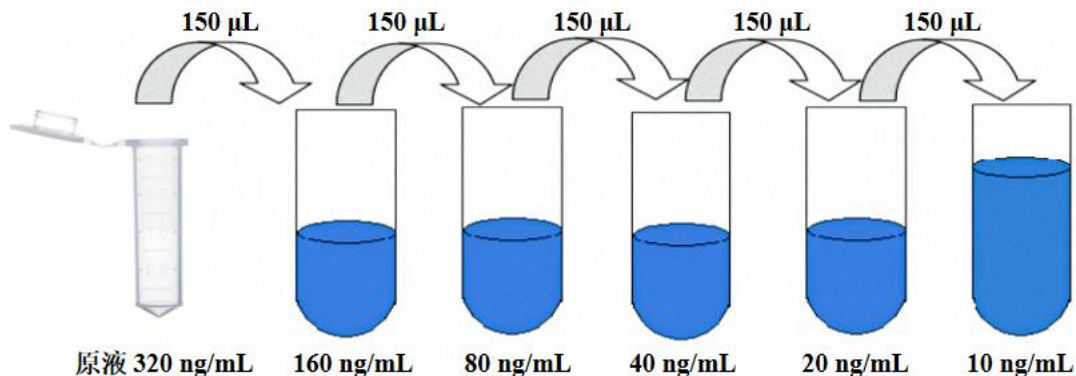
储存条件

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 320 ng/mL 的标准品原液(24h 内用完)。取 5 支干净的 EP 管, 每管加 150 μ L 的标准品稀释液, 分别标记上 160 ng/mL, 80 ng/mL, 40 ng/mL, 20 ng/mL, 10 ng/mL。取 150 μ L 标准品原液加入标记 160 ng/mL 的管中, 混匀后同样取出 150 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×) 细胞培养级	41403ES	500 mL
PBS (10×) 细胞培养级	41404ES	500 mL
10× PBST 缓冲液	60146ES	500 mL/500 mL×2