

人瘦素(LEP)ELISA 试剂盒实验使用说明书

BS-0083 人瘦素(LEP)ELISA 试剂盒

实验原理:

本试剂盒应用双夹心法测定标本中瘦素(LEP)水平。用纯化的瘦素(LEP)捕获包被微孔板,制成固相,往包被的微孔中依次加入瘦素(LEP),再与 HRP 标记的检测结合,形成-抗原-酶标复合物,经过洗涤后加底物 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瘦素(LEP)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瘦素(LEP)含量。

样品采集:

收集标本前必须清楚要检测的成份是否足够稳定。对收集后当天进行检测的标本,储存在 4℃ 备用,如有特殊原因需要周期收集标本,将标本及时分装后放在 -20℃ 或 -70℃ 条件下保存。避免反复冻融。标本 2-8℃ 可保存 48 小时, -20℃ 可保存凝血因子 IXELISA 试剂盒

自备物品:

- 1 、 37 ℃ 恒温箱
- 2 、 标准规格酶标仪
- 3 、 精密移液器及一次性吸头
- 4 、 蒸馏水
- 5 、 一次性试管
- 6 、 吸水纸

人瘦素(LEP)ELISA 试剂盒实验使用说明书样本处理及要求:

1. 血清:室温血液自然凝固 10-20 分钟,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 或柠檬酸钠作为抗凝剂,混合 10-20 分钟后,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,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。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。离心 20 分钟左右(2000-3000 转/分)。仔细收集上清。检测细胞内的成份时,用 PBS(PH7.2-7.4)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。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。

5. 组织标本:切割标本后,称取重量。加入一定量的 PBS,PH7.4。用液氮迅速冷冻保存备用。标本融化后仍然保持 2-8℃的温度。加入一定量的 PBS(PH7.4),用手工或匀浆器将标本匀浆充分。离心 20 分钟左右(2000-3000 转/分)。仔细收集上清。分装后一份待检测,其余冷冻备用。

6. 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-20℃保存,但应避免反复冻融。

7. 不能检测含 NaN₃ 的样品,因 NaN₃ 辣根过氧化物酶的(HRP)活性。

储存条件及有效期

试剂盒应在 2℃~8℃避光储存。

未开封的有效期为 12 个月,开封后有效期不少于一定天数(如 28 天,具体根据产品说明)。

实验步骤

试剂准备:将试剂盒各组分恢复至室温,按说明书要求稀释标准品和洗涤缓冲液。

加样:在酶标板上加入待测样本和标准品,孵育一定时间。

洗涤:用洗涤缓冲液洗涤酶标板,去除未结合的物质。

加入抗体:加入生物素标记的抗 AST 抗体,孵育后洗涤。

加入酶标二抗:加入亲和链酶素-HRP,孵育后再次洗涤。

显色:加入底物 A 和 B,孵育至产生明显颜色变化。

终止反应:加入终止液,终止显色反应。

测定结果:使用分光光度计或肉眼观察并测定各孔的光密度值或颜色变化,根据标准曲线计算待测样本中 AST 的浓度。

注意事项

试剂应按标签说明书储存和使用,避免不同批号的试剂混用。

实验中应使用一次性的吸头，避免交叉污染。

洗涤酶标板时应充分拍干，避免吸水纸直接放入酶标反应孔中吸水。

实验中应注意安全，避免直接接触终止液和底物 A、B，一旦接触请尽快用水冲洗。

请严格按照试剂盒说明书进行操作，以确保实验结果的准确性和可靠性。如有任何疑问或问题，请及时联系试剂盒供应商或专业技术人员进行咨询。