3-羟基犬尿氨酸（3-HK）酶联免疫分析（ELISA）

试剂盒使用说明书　　AE90932

本试剂盒仅供研究使用。

使用目的：

本试剂盒用于测定样本中 3-羟基犬尿氨酸（3-HK）的含量。

实验原理

本试剂盒应用酶联免疫竞争法测定标本中 3-羟基犬尿氨酸（3-HK）水平。用纯化的 3-羟基犬尿氨酸（3-HK）抗体包被微孔板，制成固相抗体，往包被单抗的微孔中加入 3-羟基犬尿氨酸（3-HK），和 HRP 标记的 3-羟基犬尿氨酸（3-HK）抗原，使它们竞争结合，，经过彻底洗涤后加底物 TMB 显色。样本颜色的深浅和样品中的 3-羟基犬尿氨酸（3-HK）的含量呈负相关。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 3-羟基犬尿氨酸（3-HK）的含量。

试剂盒组成

1	30 倍浓缩洗涤液	20ml×1 瓶	8	标准品 S1（20ng/ml）	0.5ml×1 瓶
2	酶标试剂	6ml×1 瓶		标准品 S2（10ng/ml）	0.5ml×1 瓶
3	酶标包被板	12 孔×8 条		标准品 S3（5ng/ml）	0.5ml×1 瓶
4	显色剂 A 液	6ml×1 瓶		标准品 S4（2.5ng/ml）	0.5ml×1 瓶
5	显色剂 B 液	6ml×1 瓶		标准品 S5（1.25ng/ml）	0.5ml×1 瓶
6	终止液	6ml×1/瓶	9	说明书	1 份
7	样品稀释液	6ml×1/瓶	10	封板膜	2 张

标本要求

1．标本处理：（1）水样　采集后经 -20℃反复冻融三次，再经玻璃纤维过滤后，备查

（2）组织　样品用丁醇：甲醇：水(5：25：70 V：V：V)抽提，或按相关文献提取进行，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，备查

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

操作步骤

1. 加样：分别设标准孔、空白孔（空白对照孔不加样品及酶标试剂，其余各步操作相同）、待测样品孔。在酶标包被板上标准孔中加 50 微升，待测样品孔中先加样品稀释液 40μl，然后再加待测样品 10μl（样品最终稀释度为 5 倍）。加样将样品加于酶标板孔底部，尽量不触及孔壁，轻轻晃动混匀。
2. 加酶：每孔加入酶标试剂 50μl，空白孔除外。

3. 温育：用封板膜封板后置 37℃温育 60 分钟。
4. 配液：将 30 倍浓缩洗涤液用蒸馏水 30 倍稀释后备用
5. 洗涤：小心揭掉封板膜，弃去液体，甩干，每孔加满洗涤液，静置 30 秒后弃去，如此重复 5 次，拍干。
6. 显色：每孔先加入显色剂 A50μl，再加入显色剂 B50μl，轻轻震荡混匀，37℃避光显色 15 分钟.
7. 终止：每孔加终止液 50μl，终止反应（此时蓝色立转黄色）。
8. 测定：以空白孔调零，450nm 波长依序测量各孔的吸光度（OD 值）。 测定应在加终止液后 15 分钟以内进行。

计算

以标准物的浓度为横坐标，OD 值为纵坐标，在坐标纸上绘出标准曲线，根据样品的 OD 值由标准曲线查出相应的浓度；再乘以稀释倍数；或用标准物的浓度与 OD 值计算出标准曲线的回归方程式，将样品的 OD 值代入方程式，计算出样品浓度，再乘以稀释倍数，即为样品的实际浓度。

注意事项

1．试剂盒从冷藏环境中取出应在室温平衡 15-30 分钟后方可使用，酶标包被板开封后如未用完，板条应装入密封袋中保存。
2．浓洗涤液可能会有结晶析出，稀释时可在水浴中加温助溶，洗涤时不影响结果。
3．各步加样均应使用加样器，并经常校对其准确性，以避免试验误差。一次加样时间最好控制在 5 分钟内，如标本数量多，推荐使用排枪加样。
4．请每次测定的同时做标准曲线，最好做复孔。如标本中待测物质含量过高（样本 OD 值小于标准品孔第一孔的 OD 值），请先用样品稀释液稀释一定倍数（n 倍）后再测定，计算时请最后乘以总稀释倍数（×n×5）。
5．封板膜只限一次性使用，以避免交叉污染。
6．底物请避光保存。
7．严格按照说明书的操作进行，试验结果判定必须以酶标仪读数为准.
8．所有样品，洗涤液和各种废弃物都应按传染物处理。
9．本试剂不同批号组分不得混用。

检测范围：

0.4ng/ml - 25ng/ml

规格：

96 份/盒

保存条件及有效期

1．试剂盒保存：2-8℃。
2．有效期：6 个月