



## 产气荚膜梭菌溶素 O (PFO) 酶联免疫分析 (ELISA)

### 试剂盒使用说明书

AE93813

本试剂盒仅供研究使用。

#### 使用目的：

本试剂盒用于测定相关液体样本中产气荚膜梭菌溶素 O (PFO) 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产气荚膜梭菌溶素 O (PFO) 水平。用纯化的产气荚膜梭菌溶素 O (PFO) 抗体包被微孔板，制成固相抗体，往包被单抗的微孔中加入产气荚膜梭菌溶素 O (PFO)，和 HRP 标记的产气荚膜梭菌溶素 O (PFO) 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产气荚膜梭菌溶素 O (PFO) 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产气荚膜梭菌溶素 O (PFO) 的含量。

#### 试剂盒组成

|   |           |          |    |                    |           |
|---|-----------|----------|----|--------------------|-----------|
| 1 | 30 倍浓缩洗涤液 | 20ml×1 瓶 | 8  | 标准品 S1 (24 ng/ml)  | 0.5ml×1 瓶 |
| 2 | 酶标试剂      | 6ml×1 瓶  |    | 标准品 S2 (12 ng/ml)  | 0.5ml×1 瓶 |
| 3 | 酶标包被板     | 12 孔×8 条 |    | 标准品 S3 (6 ng/ml)   | 0.5ml×1 瓶 |
| 4 | 显色剂 A 液   | 6ml×1 瓶  |    | 标准品 S4 (3 ng/ml)   | 0.5ml×1 瓶 |
| 5 | 显色剂 B 液   | 6ml×1 瓶  |    | 标准品 S5 (1.5 ng/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 (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 50 $\mu$ l，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 A50 $\mu$ l，再加入显色剂 B50 $\mu$ l，轻轻震荡混匀，37℃避光显色 15 分钟。
  7. 终止：每孔加终止液 50 $\mu$ l，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 值大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（ $\times n \times 5$ ）。
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：

0.5ng/ml-26ng/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