

仅供科研使用，不得用于临床检验。

大鼠过氧化脂质（LPO）定量检测试剂盒（ELISA） 说明书

货号：INS2050004

使用前，请务必仔细阅读说明书，如有不清楚的，请拨打 24h 技术支持专线：0714-6338558 或 18171667592/18108699172，咨询清楚再进行实验。

黄石市艾恩斯生物科技有限公司

网址：www.inselisa.com

电话：0714-6338558

【产品名称】

通用名称：大鼠过氧化脂质（LPO）定量检测试剂盒（ELISA）

英文名称：Rat lipid peroxide (LPO) ELISA KIT

【包装规格】

48 人份/盒，96 人份/盒

【预期用途】

仅供科研使用，定量检测血清、血浆、细胞培养上清液中大鼠过氧化脂质（LPO）的浓度。

【检验原理】

本试剂盒采用双抗体夹心酶联免疫吸附试验（ELISA）。在预包被抗大鼠过氧化脂质（LPO）抗体（固相抗体）的微孔酶标板中，加入大鼠过氧化脂质（LPO）校准品和待测样本，再加入另一株 HRP 标记的抗大鼠过氧化脂质（LPO）抗体（酶标抗体），经过温育与充分洗涤，去除未结合的组分，在微孔板固相表面形成固相抗体-抗原-酶标抗体的夹心复合物。加底物 A 和 B，底物在 HRP 催化下，产生蓝色产物，在终止液（2M 硫酸）作用下，最终转化为黄色，在酶标仪上测定吸光度（OD 值），吸光度（OD 值）与待测样品中大鼠过氧化脂质（LPO）的浓度正相关。拟合校准品曲线，可以计算出样本中大鼠过氧化脂质（LPO）的浓度。

【主要组成成分】主要成分

组分	数量	主要成分
校准品	0.5ml/管*6 管	抗原配制的 6 个浓度标准品
包被微孔板	96T	预包被固相抗体
HRP 标记抗体	6mL	HRP 标记的检测抗体
底物液 A	6mL	过氧化脲工作液
底物液 B	6mL	TMB 工作液
20×浓缩洗涤液	30mL	含 0.15%Tween20 的 PBS
终止液	6mL	2M 硫酸工作液
说明书	1 份	--
自封袋	1 个	--

仅供科研使用，不得用于临床诊断。

不干胶	2 片	--
-----	-----	----

校准品浓度依次为：80、40、20、10、5、2.5 nmol/mL。校准品已经通过测试，结果表明 HBs 抗原阴性，HIV1、HIV2 和 HCV 抗体阴性，由于不存在一种试验方法能够完全保证没有这些物质，本品必须按照具有潜在的感染性进行处理，处理过程应当遵循通用的安全措施。

需要但未提供的材料及耗材

- 1、能够检测 450 nm 吸光度的酶标仪。
- 2、精密移液器及一次性吸头
- 3、蒸馏水或去离子水
- 4、洗瓶或者自动洗板机
- 5、37℃水浴锅或恒温箱
- 6、1L 量筒
- 7、无粉一次性乳胶手套
- 8、稀释用聚丙烯试管

【储存条件及有效期】

- 1、2-8℃保存，切勿冷冻，有效期 6 个月。
- 2、开封使用后，包被微孔板放入带有干燥剂的自封袋中，密闭自封袋，并将全部试剂放回 2-8℃冰箱。
- 3、开封后，按照建议的条件保存，校准品、包被微孔板和 HRP 标记抗体，有效期为 28 天，其他成分在标签标明的有效期内是稳定的。

【适用仪器】

半自动的酶标仪，如 Thermo MK3，或者国产酶标仪。

【样本要求】

样本类型和采集

以下只是列出样品采集的一般指南。所有样本采集过程中，不得使用叠氮钠做为防腐剂。

- 1、细胞培养上清：4000rpm 条件下离心 20min，去除细胞颗粒和聚合物，上清液保存在-20℃以下，避免反复冻融。
- 2、血清：使用不含热原和内毒素的试管，操作过程中避免任何细胞刺激，4000rpm 条件仅供科研使用，不得用于临床诊断。

下离心 20min, 小心地分离出血清, 保存在 -20°C 以下, 避免反复冻融。

3、血浆: 肝素, EDTA, 或柠檬酸钠作为抗凝剂。在 4000rpm 条件下, 离心 20 分钟取上清, 血浆保存在 -20°C 以下, 避免反复冻融。

样本保存和稳定性

样本在 $2-8^{\circ}\text{C}$ 条件下, 可以储存 72h, 或者在 -20°C 储存 6 个月。样本收集后, 不是一次检测完, 请按一次用量分装冻存, 避免反复冻融, 使用时在室温下解冻, 确保样品均匀充分解冻。

【试剂准备】

1、使用前, 所有的组分都要至少复温 30min, 确保充分复温到室温。

2、浓缩洗涤液: 从冰箱取出的浓缩洗涤液, 会有结晶产生, 这属于正常现象, 水浴加热使结晶完全溶解。浓缩洗涤液与蒸馏水, 按 1:20 稀释, 即 1 份的浓缩洗涤液, 添加 19 份的蒸馏水。

3、底物: 底物液 A 和 B, 在使用前, 按 1:1 体积充分混合, 混合后 15 分钟内使用。

操作程序

1、所有试剂和组分都先恢复到室温, 标准品、质控品和样品, 建议做复孔。

2、按前面试剂准备中描述的方法, 配制好试剂盒各种组分的工作液。

3、从铝箔袋中取出所需板条, 剩余的板条用自封袋密封放回冰箱。

4、设置标准品孔、样本孔和空白孔, 标准品孔各加不同浓度的标准品 $50\ \mu\text{L}$, 样本孔加待测样本 $50\ \mu\text{L}$, 空白孔不加。

5、除空白孔外, 标准品孔和样本孔, 加入辣根过氧化物酶标记的检测抗体 $100\ \mu\text{L}$ 。

6、用封板膜盖住反应板, 37°C 水浴锅或恒温箱温育 60min。

7、揭开封板膜, 弃去液体, 吸水纸上拍干, 每孔加满洗涤液, 静置 20s, 甩去洗涤液, 吸水纸上拍干。

8、如此重复 4 次 (共洗板 5 次)。若使用自动洗板机, 请按洗板机操作程序进行洗板, 添加浸泡 20s 的程序, 可以提高检测的精度。洗板结束, 加底物前, 要在干净不掉屑的纸上, 充分拍干反应板。

- 9、将底物 A 和 B 按 1:1 体积充分混合，所有孔中加入底物混合液 100 μ L。用封板膜盖住反应板，37 $^{\circ}$ C 水浴锅或恒温箱温育 15min。
- 10、所有孔加入终止液 50 μ L，在酶标仪上读取各孔吸光度（OD 值）。

【检验结果的解释】

检测完成后，以标准品浓度做为纵坐标，对应的吸光度（OD 值）作为横坐标，利用计算机软件，采用四参数 Logistic 曲线拟合（4-pl），创建标准曲线方程，通过样本的吸光度（OD 值），利用方程计算样品的浓度值。

如果样品被稀释，通过上述方法测得的浓度值，要乘以稀释倍数，才是样品的最终浓度。

【检验方法的局限性】

- 1、仅供科研使用，不得用于临床诊断。
- 2、在试剂盒标示的有效期内使用，过期产品不得使用。
- 3、跟其他厂家的试剂盒或者组分不能混用。
- 4、使用试剂盒配套的样品稀释液。
- 5、如果样本值高于标准曲线最高浓度，请用检测缓冲液稀释样本，并重新检测。如果细胞培养上清样本需要较大的稀释倍数，请用细胞培养基进行适度稀释。
- 6、待测样本中存在的人抗鼠等异嗜抗体会干扰检测结果，检测前，请排除该因素。
- 7、通过其他方法得到的检测结果，与本试剂盒测定结果不具有直接的可比性。

【产品性能指标】

1、物理性能

试剂盒的各液体组分应澄清透明、无沉淀或者絮状物。微孔板铝箔袋应真空包装，无破损漏气。

2、剂量反应曲线线性

校准品剂量反应曲线相关系数 r 值，大于等于 0.9900。

3、精密度

批内精密度：三组已知的高、中、低浓度样品，进行二十次在同一个板块内精度评估。

批内变异系数 CV% 小于 10%。

批间精密度：三组已知的高、中、低浓度样品，进行二十次在不同板块内精度评估。批间变异系数 CV% 小于 15%。

4、灵敏度

最低检出剂量小于 0.1nmol/mL。

5、回收率

三组已知的高、中、低浓度样品，进行五次回收率评估，回收率在 85%-115% 之间。

6、特异性

本试剂盒识别天然和重组大鼠过氧化脂质（LPO），与结构类似物无交叉。

稳定性

2°C-8°C 保存，有效期 6 个月。

【注意事项】

生物安全

1、检测必须符合实验室管理规范的规定，严格防止交叉污染，所有样品、洗弃液和各种废弃物都应按照传染物进行处置。

2、试剂盒的液体组分中，含有 proclin-300 防腐剂，可能引起皮肤过敏反应，避免吸入烟雾与皮肤接触。

3、底物液对皮肤、眼睛和上呼吸道有刺激作用，避免吸入烟雾。戴上防护手套，实验完成后彻底洗手。

4、试剂盒中的终止液为酸性溶液，在使用终止液时，请佩戴防护服，及防护眼睛、手及面部的设施。

5、本试剂盒用于科学研究，不能用于诊断治疗。

6、请不要使用其他批号或其他来源的试剂替代本试剂盒中的试剂。

技术要点

1、重溶或者混合蛋白溶液时，避免起泡。

2、加标准品与样本时，每个标准品浓度和样本都要更换移液枪头，公共组分应该悬臂加样，

避免交叉污染。

3、合适的温育时间，和充分的洗涤步骤，是保证实验结果准确性的必要条件。

4、底物溶液为无色液体，保存过程中变为蓝色，代表底物溶液已经失效，不得使用。

5、终止液加样顺序与底物溶液加样顺序一致，加入终止液后，蓝色底物产物，会瞬间变为黄色。

6、实验中，用剩的板条，应立即放回自封袋中，密封（低温干燥）保存。

7、所有液体组分，使用前充分摇匀，严格按照说明书标明的时间、加样量及加样顺序进行温育操作。

废物处理

所有使用或未使用的试剂，所有污染性的一次性材料，应当遵循传染性或潜在传染性产品的处理程序，每个实验室都有责任根据其实验的类型和危险性级别，进行废物和污物的处理，同时要严格依照有关规定对待所有的废物和污物。

【基本信息】

企业名称：黄石市艾恩斯生物科技有限公司

生产地址：湖北省黄石市黄石港区磁湖路 41 号

固定电话：0714-6338558

网 址：www.inselisa.com

邮 箱：postmaster@inselisa.com

【说明书批准日期及修改日期】

批准日期：2013.05.12

第一次修改日期：2016.02.16