**人腺苷脱氨酶(ADA)ELISA试剂盒说明书**

实验原理

是采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验（ELISA）。往预先包被兔α2巨球蛋白(A2M)捕获抗体的包被微孔中，依次加入标本、标准品、HRP标记的检测抗体，经过温育并彻底洗涤。用底物TMB显色，TMB在过氧化物酶的催化下转化成蓝色，并在酸的作用下转化成zui终的黄色。颜色的深浅和样品中的兔α2巨球蛋白(A2M)呈正相关。用酶标仪在450nm 波长下测定吸光度（OD值），计算样品浓度。

样本处理要求

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。若不能人上进行试验，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抑制辣根过氧化物酶的（HRP）活性。

品优势

1. 品种齐全、质量可靠、灵敏度高、操作简便、稳定性好。

2. 特异性强：不与其它可溶性结构类似物交叉反应。

3. 重复性好：板内变异系数小于10% ，板间变异系数小于15% 。

4. 同城（上海）需要代测可免费上门取样，享送货上门服务。

5. 根据客户需求专业定制elisa试剂盒并提供免费代测服务。

6. 臻科生物可提供专业技术服务,全方位为您解决实验进程中所遇到一切实验问题。

四、ELISA试剂盒组成

名称

96孔配置

48孔配置

备注

微孔酶标板

8孔×12条

8孔×6条

无

标准品

0.3mL\*6管

0.3mL\*6管

无

样本稀释液

6mL

3mL

无

检测抗体-HRP

10mL

5mL

无

20×洗涤缓冲液

25mL

15mL

按说明书进行稀释

底物A

6mL

3mL

无

底物B

6mL

3mL

无

终止液

6mL

3mL

无

封板膜

2张

2张

无

说明书

1份

1份

无

自封袋

1个

1个

无

注意事项

1. 严格按照规定的时间和温度进行温育以保证准确结果。所有试剂都必须在使用前达到室温20-25℃。使用后立即冷藏保存试剂。

2. 洗板不正确可以导致不准确的结果。在加入底物前确保尽量吸干孔内液体。温育过程中不要让微孔干燥掉。

3. 消除板底残留的液体和手指印，否则影响OD值。

4. 底物显色液应呈无色或很浅的颜色，已经变蓝的底物液不能使用。

5. 避免试剂和标本的交叉污染以免造成错误结果。

6. 在储存和温育时避免强光直接照射。

7. 平衡至室温后再打开密封袋以防水滴凝聚在冷板条上。

8. 任何反应试剂不能接触漂白溶剂或漂白溶剂所散发的强烈气体。任何漂白成分都会破坏试剂盒中反应试剂的生物活性。

9. 不能使用过期产品。

10. 实验还需要酶标仪（450nm），37℃恒温箱，高精度加样器及枪头：0.5-10uL、2-20uL、20-200uL、200-1000uL以及蒸馏水或去离子水。

11. 试剂盒从冷藏环境中取出应在室温平衡后方可使用。

12. 20×洗涤缓冲液的稀释：蒸馏水按1：20稀释，即1份20×洗涤缓冲液加19份蒸馏水。

13. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。

操作步骤

1.从室温平衡20min后的铝箔袋中取出所需板条，剩余板条用自封袋密封放回4℃。

2.设置标准品孔和样本孔，标准品孔各加不同浓度的标准品50μL；

3.样本孔中加入待测样本50μL；空白孔不加。

4.除空白孔外，标准品孔和样本孔中每孔加入辣根过氧化物酶（HRP）标记的检测抗体100μL，用封板膜封住反应孔，37℃水浴锅或恒温箱温育60min。

5.弃去液体，吸水纸上拍干，每孔加满洗涤液（350μL），静置1min，甩去洗涤液，吸水纸上拍干，如此重复洗板5次（也可用洗板机洗板）。

6.每孔加入底物A、B各50μL，37℃避光孵育15min。

7.每孔加入终止液50μL，15min内，在450nm波长处测定各孔的OD值。

实验结果计算

以所测标准品的OD值为横坐标，标准品的浓度值为纵坐标，在坐标纸上或用相关软件绘制标准曲线，并得到直线回归方程，将样品的OD值代入方程，计算出样品的浓度。

八、关于兔α2巨球蛋白(A2M)定量ELISA试剂盒的特别说明

公司长期专业供应各类科研产品，包括ELISA试剂盒、农残试剂盒、放免试剂盒、生物试剂、检测卡等优质产品。