

人可溶性高级糖基化终末产物受体酶联免疫试剂盒
操作手册
(测定范围: 62.5-4000 pg/ml)



样品适用范围:

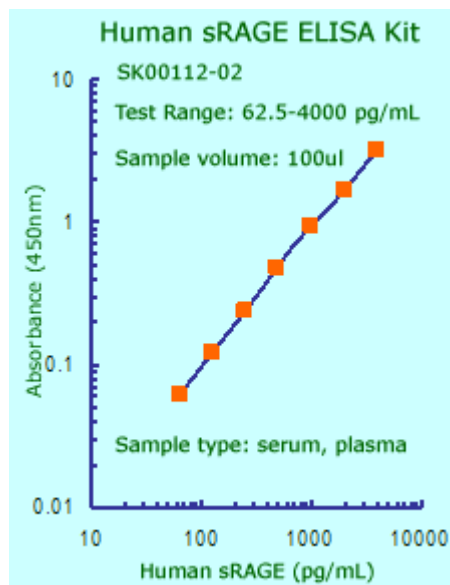
血清、血浆、

本公司承诺: 本操作手册的内容信息与所提供的试剂盒产品一致。

客户在购买前应根据实际需要考察试剂盒是否符合要求。

Order Information

| | |
|-------|-----------------------------|
| 产品号: | SK00112-01 |
| 质控号: | 00090 |
| 灵敏度: | 30 pg/ml |
| 检测范围: | 62.5 – 4000 pg/ml |
| 样本类型 | 血清、血浆、 |
| 特异性: | 人, 不适用于小鼠和大鼠的样本 |
| 规格: | 96T |
| 样本体积: | 100 μ l, 稀释倍数 2 |
| 储藏 | 4 °C |
| 差异 | Intra= 4.7 % Inter=6.0 % |



试剂盒组成:

将试剂盒里所有试剂保存于 4℃。请勿冷冻保存。

| | |
|-------------------------|-------------|
| 1. 20×实验缓冲液 | 1 瓶 (50ml) |
| 2. 预包被微孔板 | 1 个 |
| 3. 人 sRAGE 标准品 | 1 管 (4 ng) |
| 4. 检测抗体 | 1 管 (70 μl) |
| 5. 亲和素-辣根过氧化物酶 (SA-HRP) | 1 管 (10μl) |
| 6. 显色底物 (TMB) | 1 管 (12ml) |
| 7. 终止液 (2N HCl) | 1 管 (15 ml) |
| 8. 醋酸纤维素封板膜 (APS) | 1 张 |

其他材料和试剂:

实验还需自备以下材料和试剂:

- 微量移液器和移液吸头
- 96 孔板洗板机或手工操作洗板排枪(推荐使用)
- 纸巾或吸水纸
- 水平摇床 300-400 rpm(推荐使用)
- 可以检测 450-650 nm 范围内吸光度的酶标仪
- 封闭性较好的容器 (15ml 或更大的试管)

2

试剂的准备:

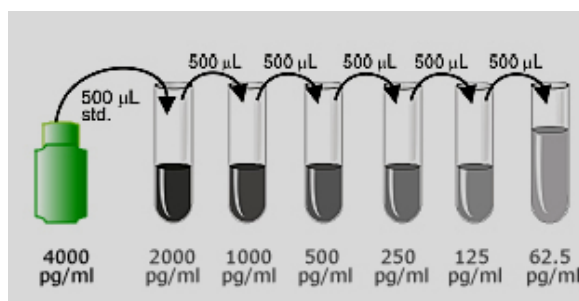
1. 1×实验缓冲液。将 50ml 20×的实验缓冲液加入到 950ml 蒸馏水中混匀。1×实验缓冲液用于稀释试剂、样本和浸洗微孔板。若储液瓶底出现结晶,可将其放入 37℃水浴中使结晶充分溶解后再进行稀释。稀释好的 1×实验缓冲液 4℃保存。
2. 检测抗体。用 70μl 1×实验缓冲液重溶检测抗体粉末,漩涡振荡,使吸附在管盖和管壁上的粉末充分被溶解。使用前用实验缓冲液按 1: 180 稀释成工作液。
3. 亲和素-辣根过氧化物酶 (SA-HRP)。离心将管壁和管盖上的液体甩下,使用前用 1×实验缓冲液按 1: 4000 稀释成工作液。

标准品的制备:

1. 用 1 ml 1×实验缓冲液重融标准品,摇匀后室温下至少放置 10 分钟使粉末充分溶解。使用之前混匀离心。原液的浓度为 4000 pg/mL。

2. 按照以下方法配制标准品溶液:

| 标准管号 | 标准液体积 | 1×实验缓冲液体积 | 浓度 |
|------|-----------|-----------|------------|
| 原液 | 粉末 | 1000μl | 4000 pg/mL |
| # 1 | 500μl 原液 | 500μl | 2000 pg/mL |
| # 2 | 500μl # 1 | 500μl | 1000 pg/mL |
| # 3 | 500μl # 2 | 500μl | 500 pg/mL |
| # 4 | 500μl # 3 | 500μl | 250 pg/mL |
| # 5 | 500μl # 4 | 500μl | 125 pg/mL |
| # 6 | 500μl # 5 | 500μl | 62.5 pg/mL |



样本预处理: 根据我们的自己的样本检测经验, 一般需要稀释 2 倍。

3

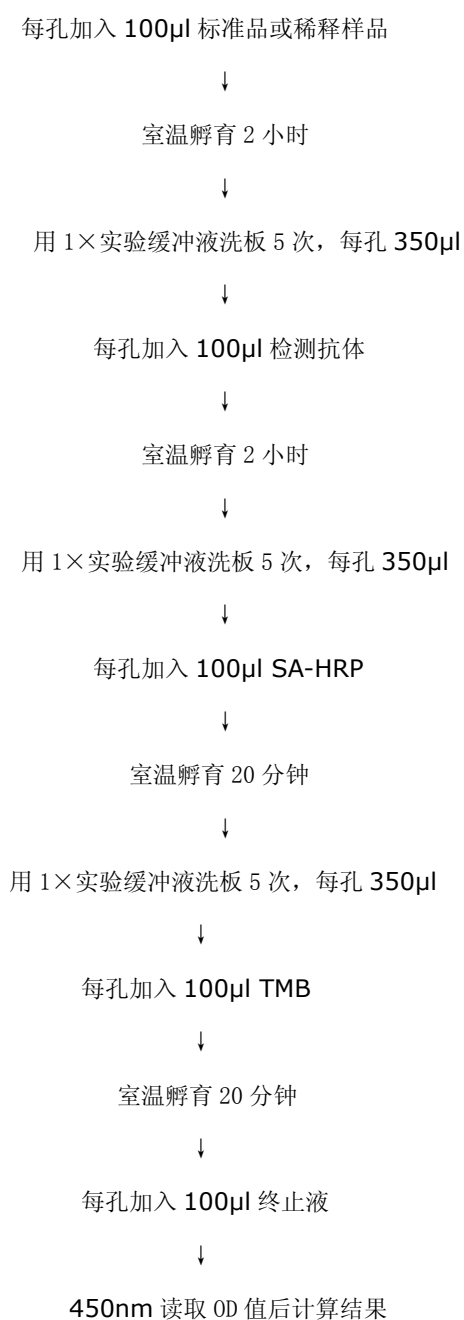
试剂盒操作步骤:

1. 进行操作前请仔细阅读本操作手册。将所有试剂恢复到室温后 (20—28℃) 后再进行操作。
2. 将预包被的微孔板从密封锡箔袋中取出, 将本次实验不需要的板条卸下, 装回袋中封好, 放回 4℃ 保存。
3. 设孔 A1, A2 为空白对照, 分别加入 100μl 1×实验缓冲液。取不同浓度的标准品溶液 100μl, 从 #6 到原液 (与稀释顺序相反), 分别加入 B1, 2 至 H1, 2 (即空白和标准品均做复孔)。
4. 样品孔中每孔加入 100μl 稀释好的样品溶液 (建议 1: 200 稀释样本)。
5. 用封板膜将孔板封好, 室温条件下孵育 2 小时 (推荐使用水平摇床 300-400rpm)。
6. 小心撕下封板膜后, 将孔中的溶液甩净, 每孔加入 350μl 的实验缓冲液浸洗, 倒出洗涤液后将孔板反扣在干净纸巾上, 控干残液。重复洗涤 5 次。
7. 每孔加入 100μl 检测抗体。将孔板用封板膜封好后, 室温孵育 2 小时 (推荐使用水平摇床 300-400rpm)。
8. 按照步骤 6 中的操作洗板 5 次。
9. 每孔加入 100μl SA-HRP 溶液, 封好孔板, 室温孵育 20 分钟 (推荐使用水平摇床 300-400rpm)。
10. 按照步骤 6 中的操作洗板 5 次。

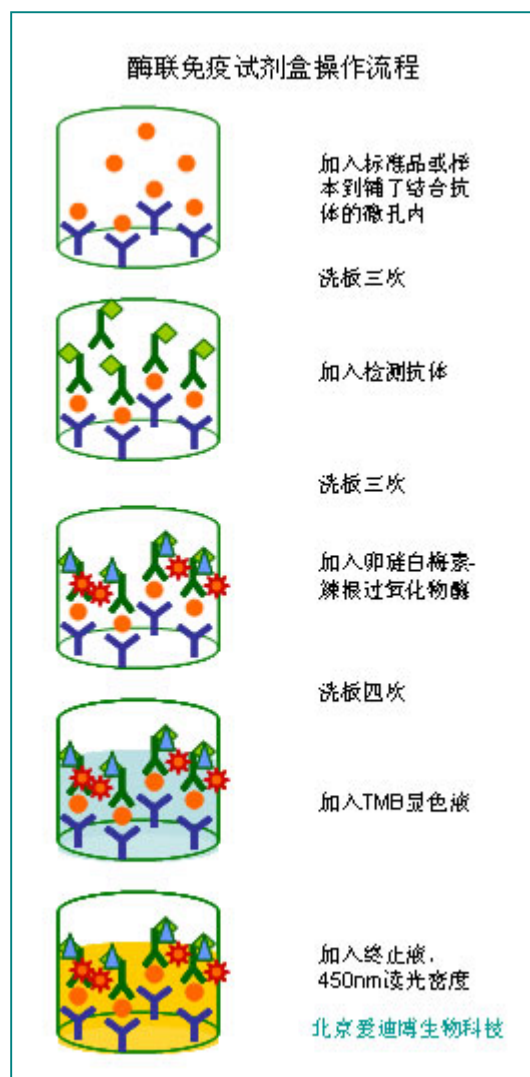
电话: 010-81786624; 010-81786244; 邮箱: Info@Adipobiotech.com 网站: www.Adipobiotech.com

11. 每孔加入 100 μ l 底物溶液 (TMB), 封好孔板, 室温孵育 20 分钟 (推荐使用水平摇床 300-400rpm)。
12. 每孔加入 100 μ l 终止液, 反应终止后应立即检测。
13. 在酶标仪上读取 450nm 各孔的 OD 值。

实验流程简图:



4



5

结果计算:

用对数图表纸绘制标准曲线。X 轴为标准品已知浓度，Y 轴表示和各个浓度相对应的 OD 值。

样品中 sRAGE 的含量是由其 OD 值在 Y 轴上的对应位置决定的，找到 Y 轴上 OD 值所对应的点后，平行于 X 轴方向做水平线，可得到与标准曲线交会的一点。再从这一点做垂直线，与 X 轴交会处指示的值即为这一样品中的 sRAGE 浓度值。

若使用分析软件采用 log-log 方法。