

# 吡啶-3-乳酸(ILA)酶联免疫分析 (ELISA)

## 试剂盒使用说明书

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吡啶-3-乳酸(ILA)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吡啶-3-乳酸(ILA)水平。用纯化的吡啶-3-乳酸(ILA)抗体包被微孔板,制成固相抗体,往包被单抗的微孔中加入吡啶-3-乳酸(ILA),和 HRP 标记的吡啶-3-乳酸(ILA)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吡啶-3-乳酸(ILA)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吡啶-3-乳酸(ILA)的含量。

### 试剂盒组成

1	30 倍浓缩洗涤液	20ml×1 瓶	8	标准品 S1 (64ng/L)	0.5ml×1 瓶
2	酶标试剂	6ml×1 瓶		标准品 S2 (32ng/L)	0.5ml×1 瓶
3	酶标包被板	12 孔×8 条		标准品 S3 (16ng/L)	0.5ml×1 瓶
4	显色剂 A 液	6ml×1 瓶		标准品 S4 (8ng/L)	0.5ml×1 瓶
5	显色剂 B 液	6ml×1 瓶		标准品 S5 (4ng/L)	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 Na<sub>3</sub>N 的样品,因 Na<sub>3</sub>N 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 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直线回归方程式，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：

1ng/L - 80ng/L

### 规格：

96 份/盒

### 保存条件及有效期

1. 试剂盒保存：2-8 $^{\circ}$ C。
2. 有效期：6 个月