

仅供科研使用，不得用于临床检验。

人前列腺素E2（PGE2） ELISA Kit

说明书

【产品名称】

通用名称：人前列腺素E2（PGE2）定量检测试剂盒（ELISA）

英文名称：Human Prostaglandin E2 ELISA KIT

【包装规格】

96T/48T

【预期用途】

仅供科研使用，定量检测血清、血浆、细胞培养上清液中前列腺素 E2（PGE2）的浓度。

【检验原理】

本试剂盒采用竞争法酶联免疫吸附试验（ELISA）。在预包被抗前列腺素 E2（PGE2）抗体（固相抗体）的微孔酶标板中，加入人 前列腺素 E2（PGE2）校准品和待测样本，再加入 HRP 标记的人 前列腺素 E2（PGE2）抗原（酶标抗原），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-酶标抗原的免疫复合物。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 450nm 波长上测定吸光度（OD 值），吸光度（OD 值）与待测样品中人 前列腺素 E2（PGE2）的浓度负相关。拟合校准品曲线，可以计算出样本中人 前列腺素 E2（PGE2）的浓度。

【主要组成成分】

主要成分

组分	数量	主要成分	开封后储存
----	----	------	-------

校准品	0.3ml/管	--	2-8℃14 天
包被微孔板	96T/48T	预包被固相抗体	2-8℃14 天
HRP 标记抗原	10mL	HRP 标记的检测抗原	2-8℃180 天
底物液 A	6mL	0.01%过氧化氢	2-8℃180 天
底物液 B	6mL	0.1%TMB	2-8℃180 天
终止液	6mL	2mol/L 稀硫酸	2-8℃180 天
样本稀释液	6mL	PBS	2-8℃180 天
20×浓缩洗涤液	25mL	0.05%Tween20	2-8℃180 天
说明书	1 份	--	--
自封袋	1 个	--	--
不干胶	2 片	--	--

标准品浓度依次为：640、320、160、80、40、0 pg/mL

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、酶标仪
- 2、精密移液器及一次性吸头
- 3、蒸馏水
- 4、洗瓶或者自动洗板机
- 5、37℃水浴锅或恒温箱
- 6、500ml 量筒
- 7、无粉一次性乳胶手套

【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 14 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 条件下离心 20min，小心地分离出血清，保存在-20℃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℃以下，避免反复冻融。

4、组织匀浆：用预冷的 PBS (0.01 M, pH=7.4) 冲洗组织，去除残留血液，称重后将组织剪碎。将剪碎的组织与对应体积的 PBS (一般按 1: 9 的重量体积比，比如 1g 的组织样品对应 9 mL 的 PBS，具体体积可根据实验需要适当调整，并做好记录。推荐在 PBS 中加入蛋白酶抑制剂) 加入玻璃匀浆器中，在冰上充分研磨。为了进一步裂解组织细胞，可以对匀浆液进行超声破碎或反复冻融。最后将匀浆液 5000×g 离心 5-10 分钟，取上清检测。

样本保存和稳定性

样本在 2-8℃ 条件下，可以储存 72h，或者在-20℃ 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。

【检验方法】

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。

操作程序

1. 按前面说明书描述的方法，配制好试剂盒各种组分的工作液。
2. 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。设置标准品孔、空白孔和样本孔，标准品孔各加不同浓度的标准品 50 μ L，空白孔不加，样本孔加待测样本 50 μ L。
3. 除空白孔外，标准品孔和样本孔，加入辣根过氧化物酶（HRP）标记的检测抗原 100 μ L。
4. 用封板膜盖住反应板，37℃水浴锅或恒温箱温育 60min。
5. 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，如此重复 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 30s 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。
6. 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℃水浴锅或恒温箱温育 15min。
7. 所有孔加入终止液 50 μ L，在 450 波长的酶标仪上读取各孔吸光度（OD 值）。

【实验结果计算】

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、如果样本值高于最高标准品浓度值，请将样本适当稀释后，再重新测定。
- 6、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. 外观和物理检查:试剂盒应组分齐全,内外包装均应完整,标签清晰,液体试剂无渗漏。各组分装量不少于表 1 中要求。
2. 线性:用四参数 Logistic 曲线拟合 (4-pl),在 40 pg/mL – 640 pg/mL 范围内,剂量-反应曲线相关系数 (r) 的绝对值应不低于 0.9900。
3. 精密度
 - 3.1 分析内精密度:试剂盒质控品测定结果的变异系数 (CV) 应不大于 15.0%。
 - 3.2 批间精密度:在三个不同批次产品之间,质控品测定结果的变异系数 (CV) 应不大于 15.0%
4. 最低检出限:最低检测浓度小于 1.0 pg/mL。
5. 质控品测定值:每次检测结果均应在允许范围内。

【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病物进行处置。
- 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。

技术提示

- 1、混合蛋白溶液时,避免起泡。
- 2、加校准品与样本时,每个校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。