**(仅供科研使用，不得用于临床诊断!)**

# 人 15-deoxy-前列腺素 J2(15d-PGJ2)ELISA 试剂盒

**产品货号：**BY-WJZF0910

**规格：**48T/96T

**使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：**

官方热线：025-5229-8998

销售部电话：13914481711

技术电话：15950492658

联系邮箱：3224949330@qq.com

公司网址：www.byabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品货号、生产日期（见盒签），以便我们更高效为您服务。

## 试剂盒性能

**检测范围：**250 pg/ml– 4000 pg/ml。

**灵敏度：**最低检出剂量小于 10 pg/ml。

**精密度：**批内变异系数 CV%小于 10%；批间变异系数 CV%小于 15%。

**回收率**：回收率在 85%-115%之间。

**特异性：**本试剂盒识别天然和重组人 15-deoxy-前列腺素 J2(15d-PGJ2)，与结构类似物无交叉。

**稳定性：**2℃-8℃保存，有效期 6 个月。

**用途：**用于检测血清、血浆、细胞培养上清液和组织等样本中人 15-deoxy-前列腺素 J2(15d-PGJ2)的浓度。

**保质期：**2℃-8℃保存，有效期 6 个月。

## 实验原理

试剂盒采用酶联免疫竞争法。往预先包被 15-deoxy-前列腺素 J2(15d-PGJ2)抗体的微孔板中依次加入样本、校准品和 Asaay Diluent，经过温育洗涤，再加入 SA-HRP 温育。再次洗涤后加入底物 TMB 显色，温育显色并用终止液终止反应后读取 OD 值。OD 值高低和样品中的 15-deoxy-前列腺素 J2(15d-PGJ2)呈负相关。随着 15-deoxy-前列腺素 J2(15d-PGJ2)浓度的升高，OD 值逐渐下降呈良好的线性关系。

本试剂盒具有灵敏度高、特异性强、重复性好、操作简单、快速等特点，对样本中 15-deoxy-前列腺素 J2(15d-PGJ2)的减少或升高有可靠的检出性能。

## 试剂盒组分与保存

未开封的试剂盒保存在 2-8 度，不得使用过期试剂盒。

| 组分 | 48 孔配置 | 96 孔配置 | 开封后储存 |
|---|---|---|---|
| 预包被酶标板 | 48T | 96T | 2-8℃14 天 |
| 标准品 | 0.5mL*6 管 | 0.5mL*6 管 | 2-8℃14 天 |
| SA-HRP | 6 ml | 12 ml | 2-8℃14 天 |
| AsaayDiluent | 6 ml | 12 ml | 2-8℃14 天 |
| 显色底物(TMB) | 6 ml | 12 ml | 2-8℃180 天 |
| 终止液 | 6 ml | 12 ml | 2-8℃180 天 |
| 20×洗液 | 15 ml | 30 ml | 2-8℃180 天 |
| 封板膜 | 2 张 | 2 张 | |
| 说明书 | 1 份 | 1 份 | |
| 自封袋 | 1 个 | 1 个 | |

校准品浓度依次为：4000 、2000 、1000 、500 、250 、0 pg/ml。

注意：

1：使用前请检查试剂盒中试剂的标签和数量与表格是否一致。

2：如果试剂盒的组份需要再次使用，请确保上一次使用之后没有被污染。

3：酶标板单次未使用完，要谨记密封放到 2-8℃保存。

## 试验所需自备试验器材（不提供，但可协助购买）

1）能够检测 450 nm 吸光度的酶标仪

2）移液器及枪头、加样槽

3）37℃恒温箱或水浴锅

4）准备试剂用的试管、离心管、量筒等

5）蒸馏水或去离子水

6）涡旋振荡器、微孔板振荡器

## 注意事项

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，使用试剂盒配套的样品稀释液。

4）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。

5）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，请排出该因素。

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。

7）试验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。特别是检测血液或者其他体液样品时，请按国家生物试验室安全防护条例执行。

8）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。

9）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。

10）消除板底残留的液体和手指印，否则影响 OD 值。

11）底物显色液应呈无色或很浅的颜色。

12）避免试剂和标本的交叉污染以免造成错误结果。

13）在储存和温育时避免强光直接照射。

14）检测使用的酶标仪需要安装能检测 450±10nm 波长的滤光片，光密度范围在 0-3.5 之间。建议使用时提前 15 分钟预热。

15）试验中所用的 EP 管和吸头均为一次性使用，严禁混用。

## 样品的准备和保存

以下只是列出样品采集和保存的一般指南。所有样本采集保存过程中，不得使用叠氮钠做为防腐剂。样品如果不立即分析，应分装后冷冻保存，且避免反复冻融。

**细胞培养上清**——离心去除沉淀，立即分析或分装后-20℃冷冻保存。

**血清**——用干净试管收集血液，室温凝固 30 分钟，离心 2000×g 20 分钟，收集血清。立即分析或分装后-20℃冷冻保存。

**血浆**——采用肝素、柠檬酸盐或 EDTA 抗凝，抽血后 30 分钟内在 2-8℃离心 2000×g 20 分钟。为消除血小板的影响，建议在 2-8℃进一步离心 10000×g 10 分钟。立即分析或分装后-20℃冷冻保存。

**细胞裂解液**——对于贴壁细胞，去除培养液，用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗一遍。加入适量裂解液，用枪吹打数下，使裂解液和细胞充分接触。通常 10 秒后，细胞就会被裂解。对于悬浮细胞，离心收集细胞，用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗一遍。加入适量裂解液，用枪吹打把细胞吹散，用手指轻弹以充分裂解细胞。充分裂解后，10000—14000×g 离心 3-5 分钟， 取上清。立即分析或分装后-20℃冷冻保存。

**组织匀浆**——用预冷的 PBS (0.01M, pH=7.4)冲洗组织，去除残留血液（匀浆中裂解的红细胞会影响测量结果），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 9mL 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，于冰上充分研磨。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。最后将匀浆液于 5000×g 离心 5~10 分钟，取上清检测。

**尿液**——用无菌管收集，离心 2000×g 20 分钟。仔细收集上清。如有沉淀形成，应再次离心。

**试剂准备**

1、使用前，所有的组分都要至少复温 60min，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**

**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。**

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。

3、将预包被板从密封袋中取出，设一个空白对照孔，不加任何液体；每个校准品建议设 2 孔，每孔加入对应校准品 15μl；其余每个检测孔直接加待测样本或质控品 15μl。

4、 除空白孔外所有孔加入 Asaay Diluent 100μl，混匀，贴上封板膜，置 37℃温育 60 分钟。

5、手工洗板：弃去孔内液体，洗涤液注满各孔，静置 10 秒甩干，重复 5 次后拍干。洗板机洗板：选择洗涤 5 次程序洗板后拍干。

**（提示：为获得理想的实验结果，必须彻底移除残留液体。洗板完成之后，请立即进行下步操作，不要让微孔板干燥。）**

6、每孔加入 SA-HRP 100μl（空白对照孔除外），混匀后贴上封板膜，置 37℃温育 30 分钟。

7、手工洗板：弃去孔内液体，洗涤液注满各孔，静置 10 秒甩干，重复 5 次后拍干。洗板机洗板：选择洗涤 5 次程序洗板后拍干。

8、每孔加 TMB 100μl，振荡混匀后，置 37℃避光显色 15 分钟，每孔加终止液 100μl。

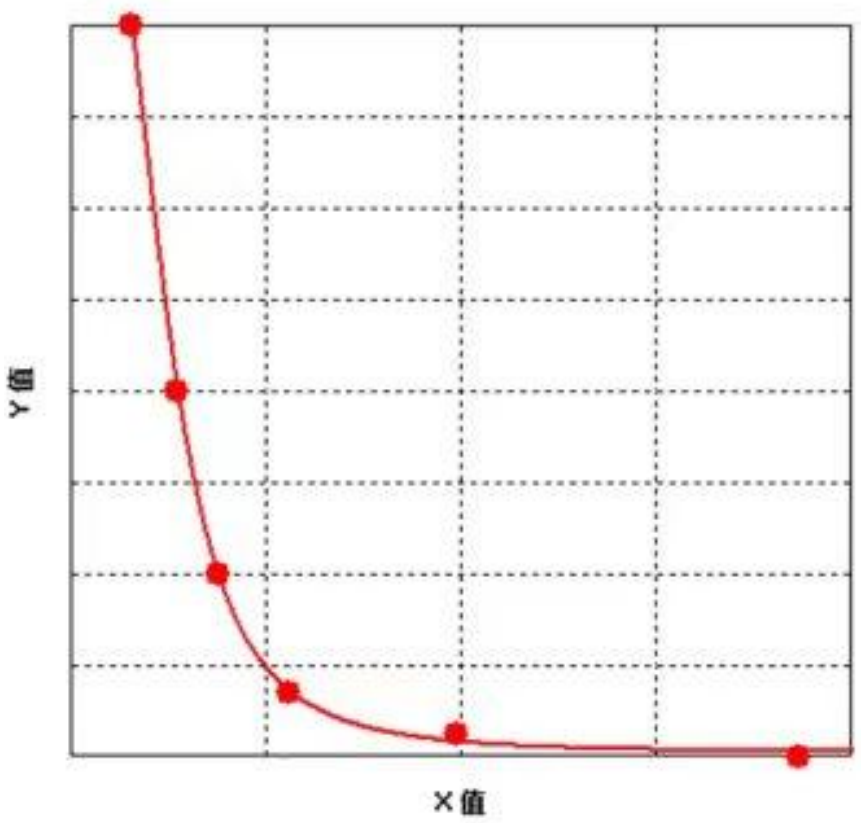
9、用酶标仪读数，取波长 450nm，先用空白对照孔调零点，然后测定各孔光密度值（OD 值）。

## 结果计算

9、以标准品浓度做为横坐标，对应的吸光度（OD 值）作为纵坐标，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。【用 ELISA Calc 软件计算】

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

**注意：**实验者需根据自己的实验建立标准曲线。每次检测，每块酶标板都必须设立标准曲线。以下曲线仅供参考！




（标曲示意图，仅供参考）

**[问题分析]**

若实验效果不好，请及时对显色结果拍照，保存实验数据，保留所用板条及未使用试剂，然后联系我公司技术支持为您解决问题。同时您也可以参考以下资料：

**[问题解答]**

| 问题描述 | 可能原因 | 相应对策相应对策 |
|---|---|---|
| 标准曲线梯度差 | 吸液或加液不准 | 检查移液器及吸头 |
| | 平衡时间太短 | 保证充足的平衡时间 |
| | 洗涤不完全 | 保证洗涤时间和洗涤次数及每孔的加液量 |
| 显色很弱或无色 | 孵育时间太短 | 保证充足的孵育时间 |
| | 实验温度不正确 | 使用推荐的实验温度 |
| | 试剂体积不够或漏加 | 检查吸液及加液过程，保证所有试剂按顺序足量添加 |
| | 稀释不正确 | |
| | 酶标记物失活或底物失效 | 混合酶结合物和底物，通过迅速显色来检查判断 |
| 读数数值低 | 酶标仪设置不正确 | 在酶标仪上检查波长及滤光片设置 |
| | | 提前打开酶标仪预热 |
| 变异系数大 | 加液不正确 | 检查加液情况 |
| 背景值高 | 检测抗体的工作浓度过高 | 使用推荐的稀释倍数 |
| | 酶标板洗涤不完全 | 保证每步清洗完全；如果用自动洗板机，请检查所有的出口是否有堵塞；是否使用试剂盒配备的洗涤液 |
| | 洗液有污染 | 配制新鲜的洗液 |
| 灵敏度低 | ELISA 试剂盒保存不当 | 按说明书要求保存相关试剂 |
| | 读数前未终止 | OD 读数前应在每孔中加入终止液 |