

# 产品说明书

产品编号: NBE-236798

版本号: RN6.2



产品名称	NebuEasy™ 维生素B12 ELISA试剂盒
产品规格	96T
检测范围	1nmol/L-55nmol/L
储存条件	4°C保存, 有效期见标签
产品应用	NebuEasy™ 维生素B12 ELISA试剂盒 (产品编号: NBE-236798) 可用于测定样本中维生素 B12 (VB12) 的含量。
检测原理	本试剂盒应用酶联免疫竞争法测定标本中维生素 B12 (VB12) 水平。用纯化的维生素 B12 (VB12) 抗体包被微孔板, 制成固相抗体, 往包被单抗的微孔中加入维生素 B12 (VB12), 和 HRP 标记的维生素 B12 (VB12) 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维生素 B12 (VB12) 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维生素 B12 (VB12) 的含量。
试剂盒组分	<ul style="list-style-type: none"><li>◇ 30×浓缩洗涤液 (20ml×1瓶)</li><li>◇ 酶标试剂 (6ml×1瓶)</li><li>◇ 酶标包被板 (12孔×8条)</li><li>◇ 样品稀释液 (6ml×1瓶)</li><li>◇ 显色剂A液 (6ml×1瓶)</li><li>◇ 显色剂B液 (6ml×1/瓶)</li><li>◇ 终止液 (6ml×1/瓶)</li><li>◇ 标准品 S1 (48nmol/L) (0.5ml×1 瓶)</li><li>◇ 标准品 S2 (24nmol/L) (0.5ml×1 瓶)</li><li>◇ 标准品 S3 (12nmol/L) (0.5ml×1 瓶)</li><li>◇ 标准品 S4 (6nmol/L) (0.5ml×1 瓶)</li><li>◇ 标准品 S5 (3nmol/L) (0.5ml×1 瓶)</li><li>◇ 封板膜 (2张)</li></ul>

## [样品处理]

- ◇ 水样: 样品采集后经 -20°C反复冻融三次, 再经玻璃纤维过滤后, 备用。
- ◇ 组织样品: 样品用乙醇: 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°C保存, 备用。

注意: 不能检测含 NaN<sub>3</sub> 的样品, 因NaN<sub>3</sub>抑制辣根过氧化物酶的 (HRP) 活性。

# 产品说明书

产品编号: NBE-236798

版本号: RN6.2



## [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 40 $\mu$ l, 然后再加待测样品 10 $\mu$ l (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 50 $\mu$ l, 空白孔除外。
3. 温育: 用封板膜封板后置 37 $^{\circ}$ C 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 A 50 $\mu$ l, 再加入显色剂 B 50 $\mu$ l, 轻轻震荡混匀, 37 $^{\circ}$ C 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。

## [结果计算]

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) 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。若不能马上进行试验, 可将标本放于 -20 $^{\circ}$ C 保存, 但应避免反复冻融。另外, 本试剂盒不能检测含 NaN<sub>3</sub> 的样品, 因 NaN<sub>3</sub> 抑制辣根过氧化物酶的 (HRP) 活性。
- 2) 试剂盒从冷藏环境中取出应在室温平衡 1 小时后方可使用, 酶标包被板开封后如未用完, 板条应装入密封袋中保存。
- 3) 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。
- 4) 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。
- 5) 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 ( $n \times 5$ )。
- 6) 封板膜只限一次性使用, 以避免交叉污染。
- 7) 底物请避光保存。
- 8) 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
- 9) 所有样品, 洗涤液和各种废弃物都应按污染物处理。