

产品说明书

产品编号：NBE-233911

版本号：RN6.0



产品名称	NebuEasy™ 小鼠γ干扰素(IFN-γ)ELISA试剂盒
产品规格	96T
检测范围	30ng/L -800ng/L
储存条件	4°C保存，有效期见标签
产品应用	NebuEasy™ 小鼠γ干扰素(IFN-γ)ELISA试剂盒（产品编号：NBE-233911）可用于测定小鼠血清、血浆及相关液体样本中γ干扰素(IFN-γ)含量。
检测原理	本试剂盒应用双抗体夹心法测定标本中小鼠γ干扰素(IFN-γ)水平。用纯化的小鼠γ干扰素(IFN-γ)抗体包被微孔板，制成固相抗体，往包被单抗的微孔中依次加入γ干扰素(IFN-γ)，再与 HRP 标记的γ干扰素(IFN-γ)抗体结合，形成抗体-抗原-酶标抗体复合物，经过彻底洗涤后加底物 TMB 显色。TMB 在 HRP 酶的催化下转化成蓝色，并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和样品中的γ干扰素(IFN-γ)呈正相关。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小鼠γ干扰素(IFN-γ)浓度。
试剂盒组分	30×浓缩洗涤液 (20ml×1瓶) 酶标试剂 (6ml×1瓶) 酶标包被板 (12孔×8条) 样品稀释液 (6ml×1瓶) 显色剂A液 (6ml×1瓶) 显色剂B液 (6ml×1/瓶) 终止液 (6ml×1/瓶) 标准品 (1600ng/L) (0.5ml×1瓶) 标准品稀释液 (1.5ml×1瓶) 封板膜 (2张) 密封袋 (1个)

产品说明书

产品编号：NBE-233911

版本号：RN6.0



[操作步骤]

1. 标准品稀释：

标准品编号	标准品浓度	标准品配置方法
5号标准品	800ng/L	将150μl的原始标准品加入150μl标准品稀释液
4号标准品	400ng/L	将150μl的5号标准品加入150μl标准品稀释液
3号标准品	200ng/L	将150μl的4号标准品加入150μl标准品稀释液
2号标准品	100ng/L	将150μl的3号标准品加入150μl标准品稀释液
1号标准品	50ng/L	将150μl的2号标准品加入150μl标准品稀释液

2. 加样：分别设空白孔（空白对照孔不加样品及酶标试剂，其余各步操作相同）、标准孔、待测样品孔。在酶标板上标准品准确加样50μl，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，尽量不触及壁，轻轻晃动混匀。

3. 温育：用封板膜封板后置37℃温育30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. 加酶：每孔加入酶标试剂50μl，空白孔除外。

7. 温育：操作同步骤3。

8. 洗涤：操作同步骤5。

9. 显色：每孔先加入显色剂A 50μl，再加入显色剂B 50μl，轻轻震荡混匀，37℃避光显色10分钟。

10. 终止：每孔加终止液50μl，终止反应（此时蓝色立转黄色）。

11. 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℃保存，但应避免反复冻融。另外，本试剂盒不能检测含NaN3的样品，因NaN3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

产品说明书

产品编号：NBE-233911

版本号：RN6.0



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（ $\times n \times 5$ ）。
- 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传染物处理。