

# 产品说明书

产品编号: NBE-235077

版本号: RN6.0



产品名称	NebuEasy™ 鸡β-防御素5(β-DF5)ELISA试剂盒
产品规格	96T
检测范围	1 - 160 pg/mL (最低检测浓度1 pg/mL)
储存条件	4°C保存, 有效期见标签
产品应用	NebuEasy™ 鸡β-防御素5(β-DF5)ELISA试剂盒 (产品编号: NBE-235077) 可用于测定鸡血清、血浆及其他体液样本中β-防御素5(β-DF5)的含量。
检测原理	本试剂盒采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验 (ELISA)。往预先包被β-防御素5 (HBD-5) 抗体的包被微孔中, 依次加入标本、标准品、HRP标记的检测抗体, 经过温育并彻底洗涤。用底物TMB显色, TMB在过氧化物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β-防御素5 (HBD-5) 呈正相关。用酶标仪在450nm 波长下测定吸光度 (OD 值), 计算样品浓度。
试剂盒组分	<ul style="list-style-type: none"><li>◇ 20×浓缩洗涤液 (25ml×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>◇ 检测抗体-HRP (10mL)</li><li>◇ 底物A (6ml×1瓶)</li><li>◇ 底物B (6ml×1瓶)</li><li>◇ 终止液 (6ml×1瓶)</li><li>◇ 标准品标准品 (S0-S5) 浓度依次为: 0、10、20、40、80、160 pg/mL (0.3ml×6瓶)</li><li>◇ 封板膜 (2张)</li><li>◇ 密封袋 (1个)</li></ul>

20×洗涤缓冲液的稀释: 蒸馏水按 1: 20 稀释, 即 1 份的 20×洗涤缓冲液加 19 份的蒸馏水。

## [操作步骤]

# 产品说明书

产品编号: NBE-235077

版本号: RN6.0



1. 从室温平衡 20min 后的铝箔袋中取出所需板条, 剩余板条用自封袋密封放回 4°C。
2. 设置标准品孔和样本孔, 标准品孔各加不同浓度的标准品 50 $\mu$ L;
3. 样本孔先加待测样本 10 $\mu$ L, 再加样本稀释液 40 $\mu$ L; 空白孔不加。
4. 除空白孔外, 标准品孔和样本孔中每孔加入辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的检测抗体 100 $\mu$ L, 用封板膜封住反应孔, 37°C 水浴锅或恒温箱温育 60min。
5. 弃去液体, 吸水纸上拍干, 每孔加满洗涤液, 静置 1min, 甩去洗涤液, 吸水纸上拍干, 如此重复洗板 5 次 (也可用洗板机洗板)。
6. 每孔加入底物 A、B 各 50 $\mu$ L, 37°C 避光孵育 15min。
7. 每孔加入终止液 50 $\mu$ L, 15min 内, 在 450nm 波长处测定各孔的 OD 值。

## [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. 试剂盒保存在 2-8°C, 使用前室温平衡 20 分钟。从冰箱取出的浓缩洗涤液会有结晶, 这属于正常现象, 水浴加热使结晶完全溶解后再使用。
2. 实验中不用的板条应立即放回自封袋中, 密封 (低温干燥) 保存。
3. 浓度为 0 的 S0 号标准品即可视为阴性对照或者空白; 按照说明书操作时样本已经稀释 5 倍, 最终结果乘以 5 才是样本实际浓度。
4. 严格按照说明书中标明的时间、加液量及顺序进行温育操作。
5. 所有液体组分使用前充分摇匀。