

产品说明书

产品编号：NBE-236880

版本号：RN6.0



产品名称 NebuEasy™ 鱼肾损伤分子-1(Kim-1)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™ 鱼肾损伤分子-1(Kim-1)ELISA试剂盒 (产品编号：NBE-236880) 可用于测定鱼类血清、血浆及其他体液样本中肾损伤分子-1(Kim-1)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)。往预先包被鱼肾损伤分子1(Kim-1)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鱼肾损伤分子1(Kim-1)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**
- ✧ 20×浓缩洗涤液 (25ml×1瓶)
 - ✧ 酶标包被板 (12孔×8条)
 - ✧ 样品稀释液 (6ml×1瓶)
 - ✧ 检测抗体-HRP (10mL)
 - ✧ 底物A (6ml×1瓶)
 - ✧ 底物B (6ml×1瓶)
 - ✧ 终止液 (6ml×1瓶)
 - ✧ 标准品 (S0-S5) 浓度依次为：0、10、20、40、80、160 pg/mL (0.3ml×6瓶)
 - ✧ 封板膜 (2张)
 - ✧ 密封袋 (1个)

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-236880

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 50μL；
3. 样本孔先加待测样本 10μL，再加样本稀释液 40μL；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 100μL，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 50μL，37°C避光孵育 15min。
7. 每孔加入终止液 50μL，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。