

人 β 淀粉样蛋白 (A β 1-42) 酶联免疫吸附检测试剂盒

预期用途：用于体外定量检测人脑脊液中 A β 1-42 浓度

货号	规格
BDEL-0813	96T

试剂盒组成

序号	名称	规格数量	储存温度
1	人 A β 1-42 标准品	5 ng/管, 2 管	2-8 °C
2	酶标板 (可拆卸)	1 块	2-8 °C
3	浓缩洗涤液 (20 \times)	20 mL/瓶	2-8 °C
4	稀释液	20 mL/瓶	2-8 °C
5	检测抗体	10 mL/管	2-8 °C
6	TMB 底物	20 mL/瓶	2-8 °C
7	终止液	10 mL/瓶	2-8 °C
8	封板覆膜	2 张	2-8 °C

储存条件：2-8 °C。

有效期：12个月，标准品溶解后，分装保存于-80 °C，避免反复冻融，应 1 月内用完。

一、检测原理

本试剂盒采用双抗体夹心 ELISA 法。用捕获抗体包被酶标板，实验室样品或标准品中的 A β 1-42 会与捕获抗体结合，游离成分被洗去。加入辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的检测抗体，形成抗体-抗原-抗体的免疫复合物，游离成分被洗去。加入显色底物 TMB，TMB 在 HRP 的催化下显现蓝色，加终止液后变为黄色。用酶标仪在 450 nm 波长处测 OD 值，A β 1-42 浓度与 OD450 值之间呈线性关系，绘制淀粉样蛋白标准曲线，通过代入公式计算出样品中 A β 1-42 浓度。

二、样品要求

脑脊液收集后 1000 \times g 离心，20 min，除去杂质及细胞碎片。取上清检测。样品收集后如不能及时检测，请按一次使用量分装，冻存于-80 °C，避免反复冻融。

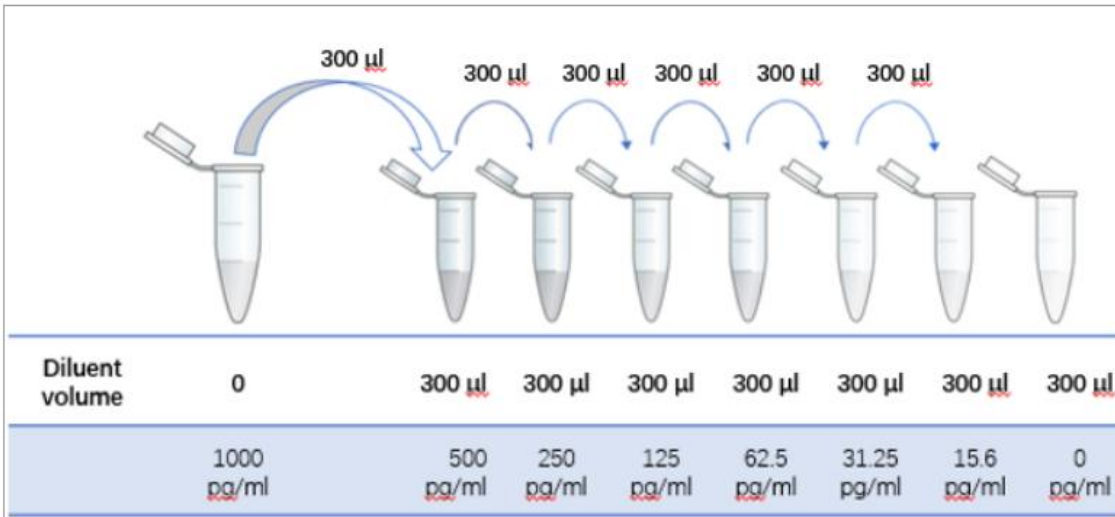
三、检测方法：

检测前准备工作：

1. 请提前 20 分钟从冰箱中取出试剂盒，平衡至室温。

2. 将浓缩洗涤液用双蒸水稀释 (1:19)，未用完的放回 4 °C。从冰箱中取出的浓缩洗涤液可能有结晶，属于正常现象，可用 40 °C 水浴微加热使结晶完全溶解后再配制洗涤液（加热温度不要超过 50 °C，使用时洗涤液应为室温），当日使用。

3. 标准品：平衡至室温，轻轻打开瓶盖，加入稀释液 1 mL 至冻干标准品中，盖好管盖，静置 10 min，上下颠倒数次，待其充分溶解后，用移液器将其轻轻混匀（浓度为 5 ng/mL）。然后根据需要进行倍比稀释（注：不要直接在反应孔中进行倍比稀释，建议配制以下浓度：500、250、125、62.5、31.25、15.6、0 pg/mL，稀释液直接作为空白孔 0 pg/mL。取 100 μL 5 ng/mL 的标准品加入含有 900 μL 稀释液的 EP 管中，混匀即可配成 500 pg/mL 的标准品，其余浓度依次进行倍比稀释。



洗涤方法：

- 1 自动洗板机：每孔加入洗涤液 300 μL，注入与吸出间隔 60 秒。
- 2 手工洗板：甩尽孔内液体。在洁净的吸水纸上拍干，每孔加洗涤液 300 μL，浸泡 3 分钟，吸去（不可触及板壁）或甩掉酶标板内的液体，在厚的吸水纸上拍干。

操作步骤：

实验开始前，各试剂均应平衡至室温；试剂或样品配制时，均需充分混匀，并尽量避免起泡。

1. 加样：

- a. 分别设标准孔，空白对照孔，待测样品孔。空白对照孔加入稀释液 50 μL，其余标准孔、待测样品孔每孔分别加入 50 μL 标准品或待测样品
- b. 空白对照孔加入稀释液 50 μL，其余标准孔、待测样品孔每孔分别加入 50 μL 检测抗体。
- c. 轻轻晃动混匀，给酶标板覆膜。室温孵育 1.5 h。
- d. 弃去孔内液体，甩干，1×洗涤液洗板 5 次。

2. 加显色底物

- a. 每孔加入显色底物 (TMB) 100 μ L。
- b. 室温避光孵育 15-30 min, 当标准孔出现明显蓝色梯度时, 即可终止。

注意: TMB 不能接触铝制容器或其它金属材料

3. 加终止液

每孔加入终止液 50 μ L。终止反应, 此时蓝色立转为黄色。

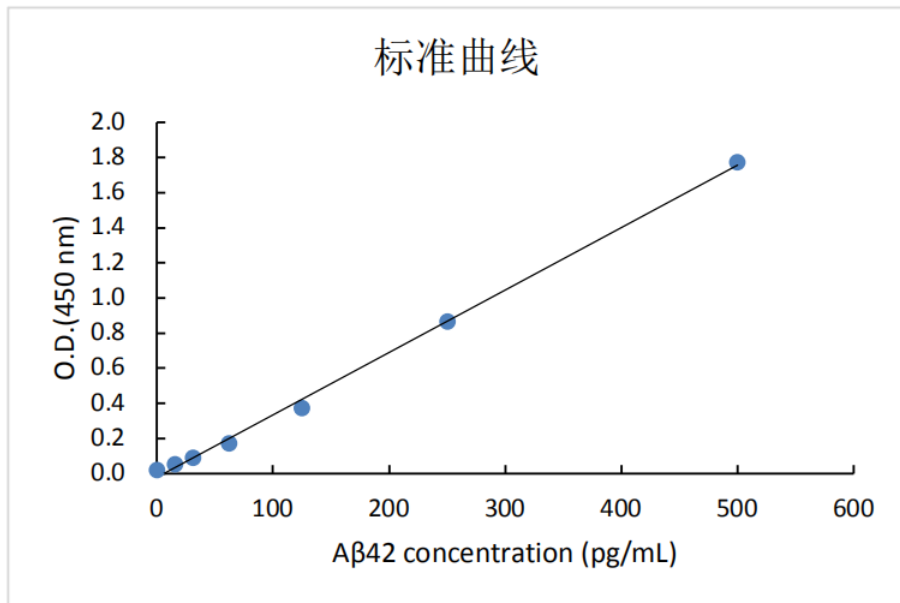
4. 读数

立即用酶标仪在 450 nm 波长测量各孔的光密度值 (OD 值)。酶标仪应根据需要提前预热。

参考值:

由于实验操作条件的不同 (如操作者, 移液技术、洗板技术和稳定条件等), 标准曲线的 OD 值会有所差异。以下数据和曲线仅供参考, 实验者需要根据自己的实验建立标准线。

A β 1-42 (pg/ml)	500	250	125	62.5	31.25	15.6	0
O.D. (450 nm)	1.755	0.910	0.416	0.215	0.133	0.097	0.0565



四、检验结果的解释

1. 每个标准品的 OD 值减去空白孔的 OD 值后作图, 如设置复孔, 则应取其平均值计算。以标准品的浓度为横坐标, OD 值为纵坐标, 绘制标准曲线。

2. 推荐使用专业的曲线制作软件，如 curve expert 1.3 或 1.4，在软件界面即可根据样品 OD 值，由标准曲线查出相应的浓度，乘以稀释倍数；亦可将样品的 OD 值代入标准曲线的拟合方程式，计算出样品浓度，再乘以稀释倍数，即为样品的实际浓度。
3. 若样品浓度高于标准曲线上限，应适当稀释后重新测定，计算浓度时乘以相应的稀释倍数。