



## 小鼠谷草转氨酶 (AST)酶联免疫分析

## 试剂盒使用说明书

本试剂盒仅供研究使用。

## 检测范围:

3ng/L - 140ng/L

## 使用目的:

本试剂盒用于测定小鼠血清、血浆及相关液体样本中谷草转氨酶 (AST)含量。

## 实验原理

本试剂盒应用双抗体夹心法测定标本中小鼠谷草转氨酶 (AST)水平。用纯化的小鼠谷草转氨酶 (AST)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谷草转氨酶 (AST)，再与 HRP 标记的谷草转氨酶 (AST)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谷草转氨酶 (AST)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谷草转氨酶 (AST)浓度。

## 试剂盒组成

试剂盒组成	48 孔配置	96 孔配置	保存
说明书	1 份	1 份	
封板膜	2 片 (48)	2 片 (96)	
密封袋	1 个	1 个	
酶标包被板	1×48	1×96	2-8℃保存
标准品: 240ng/L	0.5ml×1 瓶	0.5ml×1 瓶	2-8℃保存
标准品稀释液	1.5ml×1 瓶	1.5ml×1 瓶	2-8℃保存
酶标试剂	3 ml×1 瓶	6 ml×1 瓶	2-8℃保存
样品稀释液	3 ml×1 瓶	6 ml×1 瓶	2-8℃保存
显色剂 A 液	3 ml×1 瓶	6 ml×1 瓶	2-8℃保存
显色剂 B 液	3 ml×1 瓶	6 ml×1 瓶	2-8℃保存
终止液	3ml×1 瓶	6ml×1 瓶	2-8℃保存
浓缩洗涤液	(20ml×20 倍) ×1 瓶	(20ml×30 倍) ×1 瓶	2-8℃保存

## 样本处理及要求:

- 血清: 室温血液自然凝固 10-20 分钟，离心 20 分钟左右 (2000-3000 转/分)。仔细收集上清，保存过程中如出现沉淀，应再次离心。
- 血浆: 应根据标本的要求选择 EDTA 或柠檬酸钠作为抗凝剂，混合 10-20 分钟后，离心 20 分钟左右 (2000-3000 转/分)。仔细收集上清，保存过程中如有沉淀形成，应该再次离心。
- 尿液: 用无菌管收集，离心 20 分钟左右 (2000-3000 转/分)。仔细收集上清，保存过程中如有沉淀形成，应再次离心。胸腹水、脑脊液参照实行。

4. 细胞培养上清：检测分泌性的成份时，用无菌管收集。离心 20 分钟左右 (2000-3000 转/分)。仔细收集上清。检测细胞内的成份时，用 PBS (PH7.2-7.4) 稀释细胞悬液，细胞浓度达到 100 万/ml 左右。通过反复冻融，以使细胞破坏并放出细胞内成份。离心 20 分钟左右 (2000-3000 转/分)。仔细收集上清。保存过程中如有沉淀形成，应再次离心。
5. 组织标本：切割标本后，称取重量。加入一定量的 PBS，PH7.4。用液氮迅速冷冻保存备用。标本融化后仍然保持 2-8℃ 的温度。加入一定量的 PBS (PH7.4)，用手工或匀浆器将标本匀浆充分。离心 20 分钟左右 (2000-3000 转/分)。仔细收集上清。分装后一份待检测，其余冷冻备用。
6. 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
7. 不能检测含 NaN3 的样品，因 NaN3 抑制辣根过氧化物酶 (HRP) 活性。

#### 操作步骤：

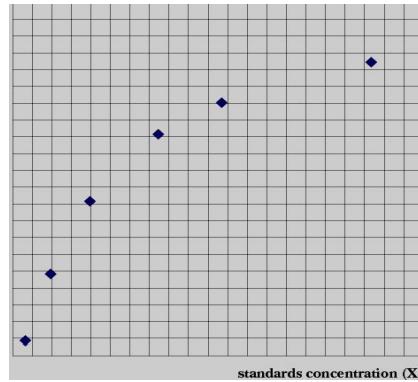
- 1、标准品的稀释：本试剂盒提供原倍标准品一支，用户可按照下列图表在小试管中进行稀释。

120ng/L	5 号标准品	150 $\mu$ l 的原倍标准品加入 150 $\mu$ l 标准品稀释液
60ng/L	4 号标准品	150 $\mu$ l 的 5 号标准品加入 150 $\mu$ l 标准品稀释液
30ng/L	3 号标准品	150 $\mu$ l 的 4 号标准品加入 150 $\mu$ l 标准品稀释液
15ng/L	2 号标准品	150 $\mu$ l 的 3 号标准品加入 150 $\mu$ l 标准品稀释液
7.5ng/L	1 号标准品	150 $\mu$ l 的 2 号标准品加入 150 $\mu$ l 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。在酶标包被板上标准品准确加样 50 $\mu$ l，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。
- 3、温育：用封板膜封板后置 37℃ 温育 30 分钟。
- 4、配液：将 30 倍 (48T 的 20 倍) 浓缩洗涤液用蒸馏水 30 倍 (48T 的 20 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 50 $\mu$ l，空白孔除外。
- 7、温育：操作同 3。
- 8、洗涤：操作同 5。
- 9、显色：每孔先加入显色剂 A50 $\mu$ l，再加入显色剂 B50 $\mu$ l，轻轻震荡混匀，37℃ 避光显色 10 分钟。
- 10、终止：每孔加终止液 50 $\mu$ l，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。

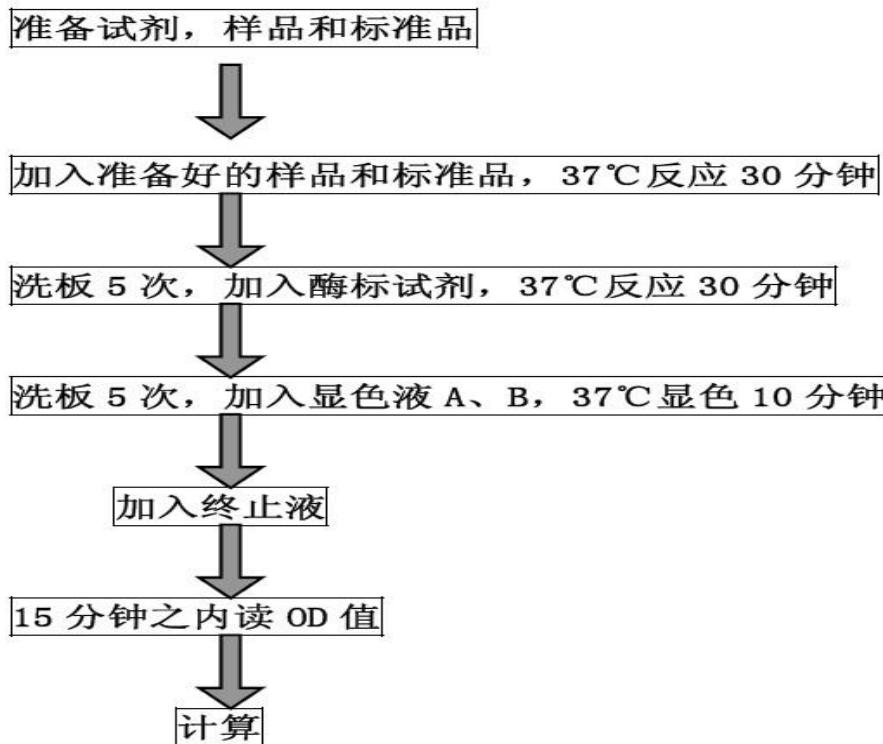
#### 计算：

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。



(此图仅供参考)

#### 操作程序总结：



### 注意事项

- 试剂盒从冷藏环境中取出应在室温平衡 15-30 分钟后方可使用，酶标包被板开封后如未用完，板条应装入密封袋中保存。
- 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。
- 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。
- 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（ $\times n \times 5$ ）。
- 封板膜只限一次性使用，以避免交叉污染。
- 底物请避光保存。
- 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。
- 所有样品，洗涤液和各种废弃物都应按传染物处理。
- 本试剂不同批号组分不得混用。

### 保存条件及有效期：

- 试剂盒保存：2-8℃
- 有效期：6 个月

### 试剂盒性能：

- 样品线性回归与预期浓度相关系数 R 值为 0.990 以上。
- 批内与批间应分别小于 9% 和 11%

武汉赛培生物，高品质 ELISA 试剂盒供应商，现货供应，厂家直销，价格实惠，售后完善，提供免费代测服务，含税含运费，（ELISA 检测试剂盒价格）欢迎您来电索取。

武汉赛培生物科技有限公司

官网：www.spbio.cn 电话：027-87639600 QQ：16558017