

HIV-1 p24 ELISA 检测试剂盒

产品描述

本品采用双抗夹心法检测样本中 HIV-1 p24 蛋白,将 HIN-1p24 特异性单克隆抗体预包被在微孔板上,将标准品与待测样本加入到已包被的反应孔内进行孵育。存在的 HIV-1 p24 蛋白会定量的与微孔板中的抗体结合,洗涤除去未结合物,加入生物素标记的抗 p24 抗体,最后加入亲和素标记 HRP,形成抗体抗原-生物素抗体酶标亲和素复合物,通过 TMB 显色程度指示样品中蛋白含量。使用前请仔细阅读说明书并检查试剂盒组分。

检测范围: 6.25-200pg/mL

定量限: 6.25pg/mL

检测限: 3.125pg/mL

精密度: CV%≤10%, RE%≤±15%

订购信息

产品名称	货号	规格
HIV-1 p24 ELISA 检测试剂盒	91-25-0017	96 T

产品组分

组分	规格	配制
HIV-1 p24 Coated Plate(包被酶标板)	8 孔×12 条×1 块	即用型
Anti-p24-Biotin(检测抗体)	150μL×1 管	1:100 用 20%CS 稀释缓冲液稀释
Streptavidin HRP(酶结合物)	150μL×1 管	1:100 用 20%CS 稀释缓冲液稀释
HIV-1 p24 Standard(标准品)	30μL×1 管 (0.48mg/mL)	按建议稀释方式操作
Lysis Buffer(裂解液)	1.5mL×1 管	即用型

苏州欣协生物科技有限公司

电话: 0512-63037851

网址: www.xinbiotech.cn

邮箱: info@szxxbio.com

20%CS Buffer	25mL×1 瓶	即用型
Sample Diluent Buffer(样品稀释液)	50mL×1 瓶	即用型
20XPBST Wash Buffer(20×PBST洗液)	50mL×1瓶	1:20用去离子水稀释
Color ReagentA(底物显色液A)	7mL×1瓶	即用型
Color Reagent B(底物显色液B)	7mL×1瓶	即用型
Stop Solution(终止液)	7mL×1瓶	即用型
封板膜	5张	即用型
说明书	1份	即用型

运输与保存

蓝冰运输。检测抗体、酶结合物、标准品和 20%CS Buffer -18℃保存，其他组分 2~8℃避光保存，有效期 12 个月。

试验所需自备器材和试剂

- (1)酶标仪
- (2)微孔板恒温振荡器
- (3)微量微量加液器及吸头
- (4)去离子水
- (5)全新滤纸
- (6)涡旋振荡器

试剂配制

(1)平衡： 将所需试剂移到室温(18~25℃)平衡 30 分钟。

(2)配液：

① 1×PBST 洗涤液：计算实验所需工作液体积，取适量 20×PBST 洗液，用去离子水 1:20 稀释，混匀后备用。

② 检测抗体及酶结合物工作液：计算实验所需工作液体积，取适量生物素抗体或酶结合物用 20%CS Buffer 1:100 稀释，充分混匀备用。

③ 标准品及样品使用样品稀释液进行稀释。

(3) 标准品稀释：标准品第一个中间梯度 (Pre-1)-20℃可存放 1-7 天。

管号	标准液浓度 (pg/mL)	标准液体积 (μ L)	稀释液体积 (μ L)	总体积 (μ L)	终浓度 (pg/mL)	剩余体积 (μ L)
Pre-1	480000000	5	495	500	4800000	490
Pre-2	4800000	10	470	480	100000	475
Pre-3	100000	5	45	50	10000	30
Pre-4	10000	20	180	200	1000	80
7	1000	120	480	600	200	300
6	200	300	300	600	100	300
5	100	300	300	600	50	300
4	50	300	300	600	25	300
3	25	300	300	600	12.5	300
2	12.5	300	300	600	6.25	600
1	/	/	300	300	0	300

操作流程

(1) 使用前，将所有试剂充分混匀，避免产生气泡。

(2) 根据实验孔数量，确定所需的板条数目，剩余板条放回含干燥剂的铝箔袋，密封。

(3) 加样：每孔加入 10 μ L 裂解液，再加入 90 μ L 标准品、样品稀释工作液、阴性对照至相应孔中。用封板膜封板后置 37℃恒温震荡培养箱，200-300rpm，温育 60 分钟。

(4) 洗涤：弃去各孔内液体，用 1×PBST 洗涤液注满微孔(300 μ L/孔)，静置 30 秒后弃去孔内液体；重复 3 次，每一次洗板完成后在滤纸上拍干。

(5)加生物素检测抗体工作液：每孔加生物素检测抗体工作液 100 μ L，用封板膜封板后置 37 $^{\circ}$ C 恒温震荡培养箱，200-300rpm，温育 60 分钟。

(6)洗涤：弃去各孔内液体，用 1 \times PBST 洗涤液注满微孔(300 μ L/孔)，静置 30 秒后弃去孔内液体；重复 3 次，每一次洗板完成后在面巾纸上拍干。

(7)加酶结合物工作液：每孔加酶结合物工作液 100 μ L，用封板膜封板后置 37 $^{\circ}$ C 恒温震荡培养箱，200-300rpm，温育 60 分钟。

(8)洗涤：弃去各孔内液体，用 1 \times PBST 洗涤液注满微孔(300 μ L/孔)，静置 30 秒后弃去孔内液体；重复 3 次，每一次洗板完成后在面巾纸上拍干。

(9)显色：每孔分别加底物显色液 A 50 μ L，底物显色液 B 50 μ L，轻微振荡混匀后用封板膜封板置 25 $^{\circ}$ C 显色 10 分钟。

(10)测定：每孔加终止液 50 μ L，轻微混匀。选择酶标仪主波长 450nm，参考波长 630nm，测定各孔吸光值(OD 值)。

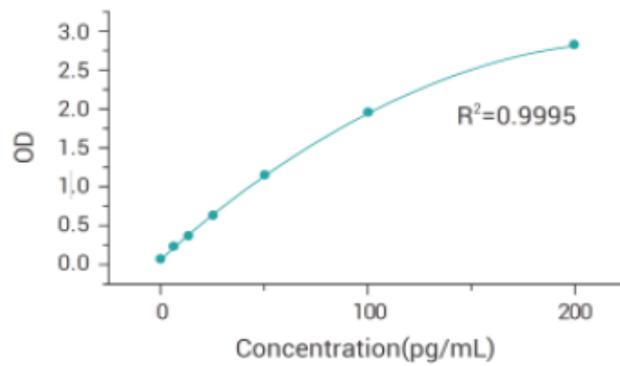
结果处理

本产品建议采用四参数的拟合方式进行线性拟合及计算。

标准曲线 OD 处理(见下例，仅为示例，具体以实际测定为准)：

标准品浓度 (pg/mL)	OD 值(1)	OD 值(2)	平均值
200	2.846	2.841	2.844
100	1.965	1.979	1.972
50	1.110	1.189	1.150
25	0.636	0.582	0.609
12.5	0.362	0.338	0.350
6.25	0.213	0.204	0.209
0	0.061	0.059	0.060

以标准品理论浓度与对应 OD 值进行四参数拟合，得到标准曲线(如下图所示)



注意事项

- (1) 试剂应按标签说明储存，使用前室温平衡。
- (2) 预包被板条使用前，请平衡至室温再打开外包装袋，实验中不用的板条应立即放回包装中密闭封口，4℃可保存一个月。其余不用试剂应包装好或盖好。
- (3) 标准品、生物素及酶结合物体积量很小，使用前请短暂离心，以使管壁或管盖的液体沉积到管底。
- (4) 实验操作中请使用一次性的吸头，避免交叉污染。
- (5) 使用前检查试剂盒内各种试剂。试剂稀释、加样和终止反应应充分混匀对实验结果尤为重要。
- (6) 洗涤过程中反应孔中残留的洗涤液应在洁净的纸巾上充分拍干，直至看不到水印。
- (7) 底物显色液对光敏感，避免长时间暴露于光下，避免与金属接触影响结果。
- (8) 本产品为一次性使用的试剂盒，请在效期内使用。
- (9) 若检测具有极高水平 p24 蛋白的样本。含有高水平 p24 (即 >200pg/mL) 的样品必须在测定前进行稀释，以获得准确的 p24 值。这类样本可能包括慢病毒上清液，通常慢病毒粗毒液建议稀释 5000-40000 倍，成品建议稀释 40000-160000 倍。首次检测建议进行至少 3 个连续倍数的稀释，以在标准曲线范围内产生至少一个稀释后样品。在进一步分析或稀释前，需充分混合稀释液。每份样品重复分析两次，以确定原始样品中正确的 p24 值