TEL:021-39596320
3004901493@qq.com
www.goybio.com

仓鼠核因子κB受体活化因子配基(RANKL)ELISA试剂盒

使用说明书　　货号GOY-2903E

- **本试剂盒用于体外定量检测血清、血浆、组织匀浆及相关液体样本中仓鼠核因子κB受体活化因子配基(RANKL)的含量。**
- **有效期：6个月**
- **保存条件：2-8℃**
- **本试剂盒仅供科研使用，不得用于临床诊断**

实验原理

试剂盒采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验（ELISA）。往预先包被仓鼠核因子κB受体活化因子配基(RANKL)捕获抗体的包被微孔中，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仓鼠核因子κB受体活化因子配基(RANKL)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。

样本处理及要求

1. 血清：将收集于血清分离管的全血标本在室温放置2小时或4℃过夜，然后1000×g离心20 分钟，取上清即可，或将上清置于-20℃或-80℃保存，但应避免反复冻融。

2. 血浆：用EDTA或肝素作为抗凝剂采集标本，并将标本在采集后的30分钟内于2-8℃ 1000×g离心15分钟，取上清即可检测，或将上清置于-20℃或-80℃保存，但应避免反复冻融。

3. 组织匀浆：用预冷的PBS (0.01M, pH=7.4)冲洗组织，去除残留血液（匀浆中裂解的红细胞会影响测量结果），称重后将组织剪碎。将剪碎的组织与对应体积的PBS（一般按1:9的重量体积比，比如1g的组织样品对应9mL的PBS，具体体积可根据实验需要适当调整，并做好记录。推荐在PBS中加入蛋白酶抑制剂）加入玻璃匀浆器中，于冰上充分研磨。为了进一步裂解组织细胞，可以对匀浆液进行超声破碎，或反复冻融。最后将匀浆液于5000×g离心5~10分钟，取上清检测。

4. 细胞培养物上清或其它生物标本：请1000×g离心20分钟，取上清即可检测，或将上清置于-20℃或-80℃保存，但应避免反复冻融。

注：标本溶血会影响最后检测结果，因此溶血标本不宜进行此项检测。

需要而未提供的试剂和器材

1. 酶标仪（450nm）
2. 高精度加样器及枪头：0.5-10uL、2-20uL、20-200uL、200-1000uL
3. 37℃恒温箱
4. 蒸馏水或去离子水

试剂盒组成

试剂盒组成 Component：

名称 Label	组成成分 Kit Components	数量（48T） Quantity	数量（96T） Quantity
酶标板	预包被捕获抗体的酶标板	8×6 条	8×12 条
校准品（10×）	待测物（1000 nmol/ml）	1 支×100μL	1 支×200μL
酶标抗体（100×）	100 倍浓缩 HRP 酶标记的检测抗体	1 支×50μL	1 支×100μL
通用稀释液（20×）	样品/校准品/酶标抗体通用稀释液	1 支×10mL	1 支×15mL
浓缩洗液（20×）	20 倍浓缩洗液	1 支×15mL	1 支×25mL
显色剂	TMB、过氧化氢	1 支×6mL	1 支×10mL
终止液	稀硫酸	1 支×3mL	1 支×6mL

备注：
经过大量正常标本检验，标本的正常浓度值均在试剂盒提供的检测范围内，实验过程中直接取50μL样本上样即可。当有部分样本值超过最大标准品浓度时，可用样本稀释液将标本进行适当稀释后再进行实验。

回收率:

回收率在不同基质的整个测定范围内选取在健康小鼠血清、血浆和细胞培养上清中加入 3 个不同浓度水平计算回收率。

样样本类型	范范围（%）	平平均均回收率（%）
血血清(n=8)	86-102	94
血血浆(n=8)	90-106	98
细细胞培养上清(n=8)	94-110	102

结果的计算:

计算标准品和样本复孔的平均 OD 值并减去空白孔的 OD 值作为校正值。以浓度为横坐标，OD 值为纵坐标，在坐标纸上绘出四参数逻辑函数的标准曲线(作图时去掉空白组的值)。或者使用能够生成四参数逻辑(4-P)曲线拟合的计算机软件来创建标准曲线。若样品 OD 值高于标准曲线上限，应适当稀释后重测并在计算样本浓度时乘以相应的稀释倍数。

注意事项

1. 严格按照规定的时间和温度进行温育以保证准确结果。所有试剂都必须在使用前达到室温 20-25℃。使用后立即冷藏保存试剂。
2. 洗板不正确可以导致不准确的结果。在加入底物前确保尽量吸干孔内液体。温育过程中不要让微孔干燥掉。
3. 消除板底残留的液体和手指印，否则影响 OD 值。

TEL:021-39596320
3004901493@qq.com
www.goybio.com

4. 底物显色液应呈无色或很浅的颜色，已经变蓝的底物液不能使用。
5. 避免试剂和标本的交叉污染以免造成错误结果。
6. 在储存和温育时避免强光直接照射。
7. 平衡至室温后再打开密封袋以防水滴凝聚在冷板条上。
8. 任何反应试剂不能接触漂白溶剂或漂白溶剂所散发的强烈气体。任何漂白成分都会破坏试剂盒中反应试剂的生物活性。
9. 不能使用过期产品。
10. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。