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

小鼠髓过氧化物酶特异性抗中性粒细胞胞质抗体IgG(MPO-ANCA IgG)ELISA试剂盒

使用说明书　　货号GOY-1979E

- **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小鼠髓过氧化物酶特异性抗中性粒细胞胞质抗体IgG(MPO-ANCA IgG)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）。往预先包被小鼠髓过氧化物酶特异性抗中性粒细胞胞质抗体IgG(MPO-ANCA IgG)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小鼠髓过氧化物酶特异性抗中性粒细胞胞质抗体IgG(MPO-ANCA IgG)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。