

SEE778Hu 96T
免疫球蛋白 A1 (IgA1) 检测试剂盒
(酶联免疫吸附试验法)
适用生物：人
使用说明书

仅供体外研究使用，不用于临床诊断！

第 11 版（2013 年 07 月修订）

[预期应用]

本试剂盒运用双抗体夹心 ELISA 法定量测定人血清、血浆、唾液 或其它相关生物液体中 IgA1 含量。

[试剂盒内容]

试剂名称	数量	试剂名称	数量
96孔板(预包被)	1	96孔板覆膜	4
标准品	2	标准品稀释液	1×20mL
检测溶液A	1×120 μ L	检测稀释液A	1×12mL
检测溶液B	1×120 μ L	检测稀释液B	1×12mL
TMB底物	1×9mL	终止液	1×6mL
浓洗涤液(30×)	1×20mL	使用说明书	1

[需自备的设备及试剂]

- 1、450±10nm 滤光片的酶标仪(建议仪器使用前提前预热)
- 2、单道或多道微量加液器及

- 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、唾液：收集样本后 4℃ 保存，如存在唾液中残渣或沉淀物可离心取上清。在冷冻条件下的样本，应在解冻后充分混匀。
- 4、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。

注意：

- 1、以上标本均需密封保存，4℃ 保存应小于 1 周，-20℃ 不应超过 1 个月，-80℃ 不应超过 2 个月。
- 2、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。
- 3、标本使用前应缓慢均衡至室温，不应加热使之融解。

[试剂准备]

- 1、使用前将所有的试剂和标本缓慢均衡至室温(18-25℃)，试剂不能直接在 37℃ 溶解。
- 2、**标准品**(冻

- 6、试剂盒中部分试剂为储存液，客户需配置成工作液后使用，在配置过程中如因纯净水质量差或水质污染，以及实验中所用耗材洁净度差，可能造成实验结果不准确，甚至完全错误，请使用双蒸水。

[标本处理]

- 1、本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用该试剂盒所造成的样本消耗负责，请使用者使用前充分考虑到样本的可能使用量，预留充足的样本。
- 2、实验前应预测标本含量，如果标本浓度过高，应对标本进行稀释，使稀释后的标本符合试剂盒的检测范围，计算时再乘以相应的稀释倍数。
- 3、血清或血浆标本推荐稀释大约 50,000 倍，如：稀释 50,000 倍，首先取 20 μ L 血清或血浆样本加入 180 μ L PBS，做 10 倍稀释，然后取 10 倍稀释后的样本 10 μ L 加入 490 μ L PBS，做 500 倍稀释，最后取 500 倍稀释后的样本 10 μ L 加入 990 μ L PBS 即可，稀释的每一步都需混匀。标本使用 0.01mol/L 的 PBS 稀释 (PH=7.0-7.2)。
- 4、若所检样本不包含在说明书所列样本之中，建议进行预实验验证其有效性，并注意留存样本。
- 5、使用化学裂解液制备的组织匀浆或细胞提取液可能会由于某些化学物质的

- 3、**温育：**为防止样品蒸发，实验时请将加上盖或覆膜的酶标板置于湿盒内，以避免液体蒸发，洗板后应尽快进行下步操作，任何时候都应避免酶标板处于干燥状态，同时应严格遵守给定的温育时间和温度。
- 4、**洗涤：**充分的洗涤非常重要，在每次洗涤过程中，都要将洗涤液完全甩干。洗涤过程中反应孔中残留的洗涤液应在滤纸上拍干，勿将滤纸直接放入反应孔中吸水，同时要消除板底残留的液体和手指印，避免影响最后的酶标仪读数。如果有自动洗板机，应在熟练使用后再用到正式实验过程中。
- 5、**反应时间的控制：**加入底物后请定时观察反应孔的颜色变化(比如，每隔 10 分钟观察一次)，如颜色较深，请提前加入终止液终止反应，避免反应过强从而影响酶标仪光密度读数。
- 6、**底物：**底物请避光保存，在储存和温育时避免强光直接照射。
- 7、如果实验室内湿度低于 60%，推荐使用加湿器提高湿度水平。

[实验原理]

将 IgA1 抗体包被于 96 孔微孔板中，制成固相载体，向微孔中分别加入标准品或标本，其中的 IgA1 与连接于固相载体上的抗体结合，然后加入生物素化的 IgA1 抗体，将未结合的生物素化抗体洗净后，加入 HRP 标记的亲和素，再次彻底洗涤后加入 TMB 底物显色。TMB 在过氧化物酶的催化下

[检测范围]

1.37ng/mL-1,000ng/mL

[最低检测限]

0.06ng/mL

此值为 20 个空白样品 (即标准品稀释液) 测定的平均值加二倍标准差所对应的浓度。

[特异性]

本试剂盒用于检测 IgA1, 经检测与其它相似物质无明显交叉反应。

由于受到技术及样本来源的限制, 不可能完成对所有相关或相似物质交叉反应检测, 因此本试剂盒有可能与未经检测的其它物质有交叉反应。

[回收率]

分别于定值血清及血浆样本中加入一定量的 IgA1 (加标样品), 重复测定并计算其均值, 回收率为测定值与理论值的比率。

样本	回收率范围 (%)	平均回收率 (%)
血清 (n=5)	87-98	9

[实验流程]

- 1、实验前标准品、试剂及样本的准备；
- 2、加样（标准品及样本）100 μ L，37°C 孵育2小时；
- 3、吸弃，加检测溶液A100 μ L，37°C 孵育1小时；
- 4、洗板3次；
- 5、加检测溶液B100 μ L，37°C 孵育30分钟；
- 6、洗板5次；
- 7、加TMB底物90 μ L，37°C 孵育15—25分钟；
- 8、加终止液50 μ L，立即450nm读数。

[说明]

- 1、由于现有条件及科学技术水平尚不能对所有供货商提供的所有原料进行全面的鉴定与分析，本产品可能存在一定的质量技术风险。
- 2、最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及当时的实验环境密切相关，请务必准备充足的标本备份。
- 3、不同批次的同一产品可能会有少许差别，如：检测限、灵敏度以及显色时间等，请依据试剂盒内说明书进行实验操作，网站电子版说明书仅作参考。
- 4、只有全部使用本试剂盒配套试剂才能保证检测效果，不能混用其他制造商的产品。只有严格遵守本试剂盒的实验说明才会得到最佳的检测结果。
- 5、在储存及温育过程中避免将试剂暴露在强光中。所有试剂瓶盖须盖紧以防止蒸发和微生物的污染，因为蛋白水解酶的干扰将导致出现错误的结果。
- 6、刚

[问题解答]

问题	可能原因	解决方案
标准曲线差	标准品准备不正确	进行正确的标准品梯度稀释
	吸取及洗涤不充分	充分的吸取及洗涤
	移液不精确	检查和校正移液器
精密度低	洗涤不充分	按说明书要求充分洗涤和浸泡
	混匀不充分和吸取试剂不足	充分混匀和吸取试剂
	重复利用吸头、容器和覆膜	使用加样器要更换新的吸头、使用新的容器和覆膜
	加样不精确	检查和校正移液器
O.D 值低	每孔加的试剂量不精确	校正移液器，精确加入试剂
	温育时间不正确	保证充足的温育时间
	温育温度不正确	试剂要平衡至室温并保证准确的温育温度
	酶标记物或底物失效	通过混合酶标记物和底物，颜色应迅速显现来检查
	没有加入终止液	按照说明书实验操作步骤加入终止液