



## Der f 1 酶联免疫试剂盒

货号：M71081

组成	
Der f 1 抗体预包被板	1 块 (96 孔板)
Der f 1 标准抗原 浓度 2000ng/ml	1 支 (45uL)
生物素偶联 Der f 1 抗体	1 支 (11uL)
链霉抗生物素化过氧化物酶	1 支 (11uL)
洗涤缓冲液 (10X)	1 支 (20mL)
稀释缓冲液 (10X)	1 支 (4mL)
底物	1 支 (11mL)
终止液	1 支 (6mL)
封板膜	3 张

### ★保存方式及稳定性

- 按条件保存的试剂盒保质期为 18 个月（见盒外失效日期），所有组分均可常温运输。
- 收到试剂盒后，请于 2-8°C 作长期保存。
- 稀释后的缓冲液可以储存在 4°C 一周。
- 本试剂盒仅限科学研究使用。

### ★用户自备仪器及耗材

18.2MΩ 去离子水或者超纯水  
刻度量筒，离心管  
清洁缓冲液和试剂制备容器  
涡旋混合器  
移液器，枪头  
能读取 450nm 处的吸光度

### ★试验步骤——方案

在试验开始前请将试剂盒置于室温 (20-25°C)。

- 使用 18.2MΩ 去离子水或者超纯水在干净的容器中将 10X 的浓缩液制备成 1X 的洗涤缓冲液和样本稀释液  
对于一块板：  
**洗涤缓冲液：** 将 20mL 浓缩液加入 180mL 水中（总体积 200mL）  
**稀释缓冲液：** 将 4mL 浓缩液加入 36mL 水中（总体积 40mL）  
  
• 依据试验样本量进行稀释，高浓度样品在加入平板之前需要预稀释。
- 从铝箔袋中取出检测板。
- 向 A1-H1 和 A2-H2 孔中加入 100μL 稀释缓冲液。A1 和 A2 孔中额外添加 80μL 稀释缓冲液。
- 标准品配制加样：轻轻涡旋 Der f 1 标准品，向孔 A1 和 A2 中加入 20μL。通过上下移液混匀，然后将 100μL 转移到孔 B1 和 B2，继续混匀并稀释到 F1 和 F2，从孔 F1 和 F2 中取出并丢弃 100μL（剩余 100μL）。孔 G1、G2 和 H1、H2 中的稀释缓冲液将作为空白。



样本配制加样：本试剂盒检测范围为 3.125-100ng/ml，将样本用稀释液稀释，复孔加样，检测 OD 值应该落在标准曲线的中段，如果 OD 值在检测样本的上端或下端，重新稀释样本继续检测。。

5. 盖上封板膜，室温避光孵育 1 小时。每孔 150uL 清洗液，清洗检测板 3 次。
6. 轻轻涡旋生物素化抗体，制备成 1:1000 的检测抗体。即将 11uL 生物素化抗体加入到 11mL 的稀释缓冲液中，充分混合，每孔加入 100uL。
7. 盖上封板膜，室温避光孵育 1 小时。每孔 150ul 清洗液，清洗检测板 3 次。
8. 轻轻涡旋链霉抗生物素化过氧化物酶，制备成 1:1000 的稀释液。即将 11 $\mu$ L 链霉抗生物素化过氧化物酶加入到 11mL 的稀释缓冲液中，充分混合，每孔加入 100uL。
9. 盖上封板膜，室温避光孵育 1 小时。每孔 150uL 清洗液，清洗检测板 3 次。
10. 每孔中加入 100 $\mu$ L 底物室温（20°C ~ 25°C）孵育 20min,即向每孔中加入 50 $\mu$ L 终止液（颜色将变为黄色）。
11. 轻轻敲击板以确保均匀性，并在 30 分钟内于 450nm 处测量吸光度。

## ★ 检测性能

标准曲线：100-3.125ng/mL

最低检出限：3ng/mL

空白：OD（450nm）<0.08

线性相关性：R<sup>2</sup>>0.98

## ★ 结果计算

以校准品浓度 (ng/ml) 为横坐标，对应校准品 OD 值 (检测孔平均 OD 值减去空白孔 OD 值) 为纵坐标，进行四参数曲线拟合，建立标准曲线，将待检样品复孔的平均 OD 值代入标准曲线，计算样本中的Der f 1浓度值。