



植物活性氧(ROS)酶联免疫分析

试剂盒使用说明书

本试剂盒仅供研究使用。

检测范围:

30pg/ml -850pg/ml

48T / 96T

使用目的:

本试剂盒用于测定植物样本中活性氧(ROS)含量。

实验原理

本试剂盒应用双抗体夹心法测定标本中植物活性氧(ROS)水平。用纯化的植物活性氧(ROS)抗体包被微孔板,制成固相抗体,往包被单抗的微孔中依次加入活性氧(ROS),再与 HRP 标记的活性氧(ROS)抗体结合,形成抗体-抗原-酶标抗体复合物,经过彻底洗涤后加底物 TMB 显色。TMB 在 HRP 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活性氧(ROS)呈正相关。用酶标仪在 450nm 波长下测定吸光度 (OD 值), 通过标准曲线计算样品中植物活性氧(ROS)浓度。

试剂盒组成

试剂盒组成	48 孔配置	96 孔配置	保存
说明书	1 份	1 份	
封板膜	2 片 (48)	2 片 (96)	
密封袋	1 个	1 个	
酶标包被板	1×48	1×96	2-8℃ 保存
标准品: 1600pg/ml	0.5ml×1 瓶	0.5ml×1 瓶	2-8℃ 保存
标准品稀释液	1.5ml×1 瓶	1.5ml×1 瓶	2-8℃ 保存
酶标试剂	3 ml×1 瓶	6 ml×1 瓶	2-8℃ 保存
样品稀释液	3 ml×1 瓶	6 ml×1 瓶	2-8℃ 保存
显色剂 A 液	3 ml×1 瓶	6 ml×1 瓶	2-8℃ 保存
显色剂 B 液	3 ml×1 瓶	6 ml×1 瓶	2-8℃ 保存
终止液	3ml×1 瓶	6ml×1 瓶	2-8℃ 保存
浓缩洗涤液	(20ml×20 倍) ×1 瓶	(20ml×30 倍) ×1 瓶	2-8℃ 保存

标本要求:

1. 标本采集后尽早进行提取,提取按相关文献进行,提取后应尽快进行实验。若不能马上进行试验,可将标本放于-20℃保存,但应避免反复冻融
2. 不能检测含 NaN3 的样品,因 NaN3 抑制辣根过氧化物酶的 (HRP) 活性。

操作步骤:

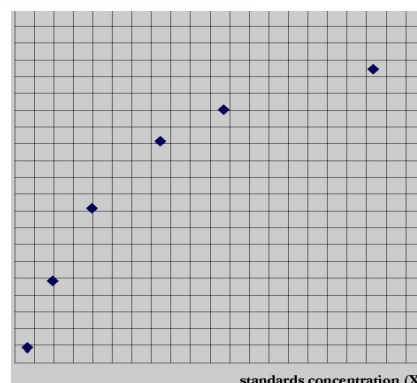
- 1、标准品的稀释: 本试剂盒提供原倍标准品一支,用户可按照下列图表在小试管中进行稀释。

800pg/ml	5 号标准品	150μl 的原倍标准品加入 150μl 标准品稀释液
400pg/ml	4 号标准品	150μl 的 5 号标准品加入 150μl 标准品稀释液
200pg/ml	3 号标准品	150μl 的 4 号标准品加入 150μl 标准品稀释液
100pg/ml	2 号标准品	150μl 的 3 号标准品加入 150μl 标准品稀释液
50pg/ml	1 号标准品	150μl 的 2 号标准品加入 150μl 标准品稀释液

- 2、加样：分别设空白孔（空白对照孔不加样品及酶标试剂，其余各步操作相同）、标准孔、待测样品孔。在酶标包被板上标准品准确加样 50μl，待测样品孔中先加样品稀释液 40μl，然后再加待测样品 10μl（样品最终稀释度为 5 倍）。加样将样品加于酶标板孔底部，尽量不触及孔壁，轻轻晃动混匀。
- 3、温育：用封板膜封板后置 37℃温育 30 分钟。
- 4、配液：将 30 倍（48T 的 20 倍）浓缩洗涤液用蒸馏水 30 倍（48T 的 20 倍）稀释后备用
- 5、洗涤：小心揭掉封板膜，弃去液体，甩干，每孔加满洗涤液，静置 30 秒后弃去，如此重复 5 次，拍干。
- 6、加酶：每孔加入酶标试剂 50μl，空白孔除外。
- 7、温育：操作同 3。
- 8、洗涤：操作同 5。
- 9、显色：每孔先加入显色剂 A50μl，再加入显色剂 B50μl，轻轻震荡混匀，37℃避光显色 10 分钟。
- 10、终止：每孔加终止液 50μl，终止反应（此时蓝色立转黄色）。
- 11、测定：以空白孔调零，450nm 波长依序测量各孔的吸光度（OD 值）。测定应在加终止液后 15 分钟以内进行。

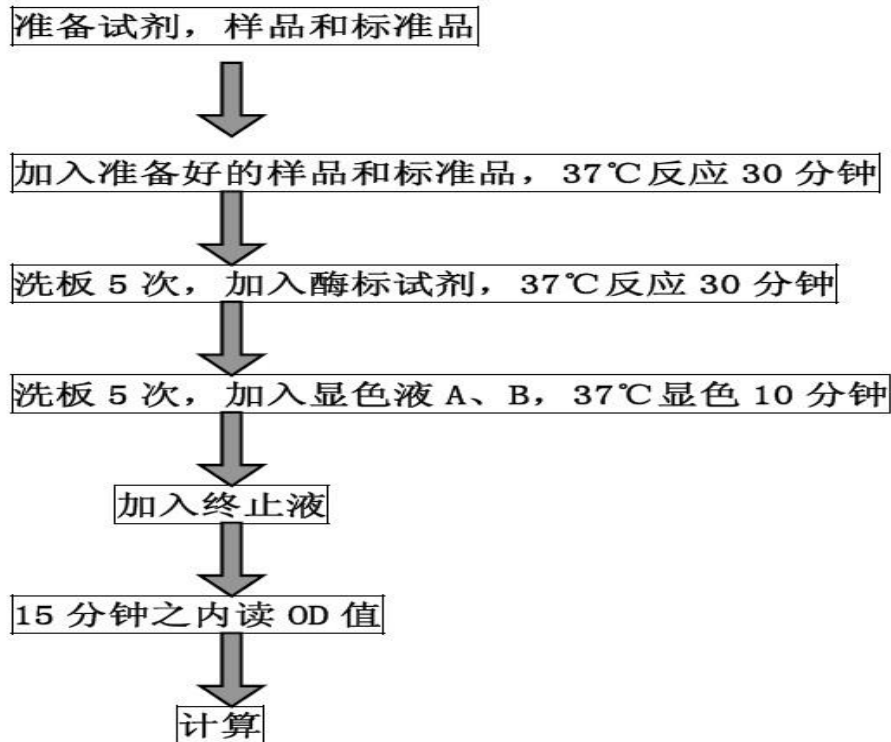
计算：

以标准物的浓度为横坐标，OD 值为纵坐标，在坐标纸上绘出标准曲线，根据样品的 OD 值由标准曲线查出相应的浓度；再乘以稀释倍数；或用标准物的浓度与 OD 值计算出标准曲线的直线回归方程式，将样品的 OD 值代入方程式，计算出样品浓度，再乘以稀释倍数，即为样品的实际浓度。



（此图仅供参考）

操作程序总结：



注意事项

1. 试剂盒从冷藏环境中取出应在室温平衡 15-30 分钟后方可使用，酶标包被板开封后如未用完，板条应装入密封袋中保存。
2. 浓洗涤液可能会有结晶析出，稀释时可在水浴中加温助溶，洗涤时不影响结果。
3. 各步加样均应使用加样器，并经常校对其准确性，以避免试验误差。一次加样时间最好控制在 5 分钟内，如标本数量多，推荐使用排枪加样。
4. 请每次测定的同时做标准曲线，最好做复孔。如标本中待测物质含量过高（样本 OD 值大于标准品孔第一孔的 OD 值），请先用样品稀释液稀释一定倍数（ n 倍）后再测定，计算时请最后乘以总稀释倍数（ $\times n \times 5$ ）。
5. 封板膜只限一次性使用，以避免交叉污染。
6. 底物请避光保存。
7. 严格按照说明书的操作进行，试验结果判定必须以酶标仪读数为准。
8. 所有样品，洗涤液和各种废弃物都应按传染物处理。
9. 本试剂不同批号组分不得混用。

保存条件及有效期:

1. 试剂盒保存: 2-8℃
2. 有效期: 6 个月

试剂盒性能:

1. 样品线性回归与预期浓度相关系数 R 值为 0.990 以上。
2. 批内与批间应分别小于 9% 和 11%

武汉赛培生物，高品质 ELISA 试剂盒供应商，现货供应，厂家直销，价格实惠，售后完善，提供免费代测服务，含税含运费，（ELISA 检测试剂盒价格）欢迎您来电索取。

武汉赛培生物科技有限公司

官网: www.spbio.cn 电话: 027-87639600

QQ: 16558017