



本试剂盒只能用于科学研究，不得用于医学诊断。

大鼠 8 羟基脱氧鸟苷（8-OHdG）定量检测试剂盒（ELISA） 使用说明书

【试剂盒名称】

大鼠 8 羟基脱氧鸟苷（8-OHdG）定量检测试剂盒（ELISA）

【试剂盒用途】

定量检测大鼠血清、血浆及相关液体样本中 8 羟基脱氧鸟苷（8-OHdG）的含量。

【检测原理】

本试剂盒采用双抗体两步夹心酶联免疫吸附法（ELISA）。将标准品、待测样本加入到预先包被大鼠 8 羟基脱氧鸟苷（8-OHdG）单克隆抗体透明酶标包被板中，温育足够时间后，洗涤除去未结合的成分，再加入酶标工作液，温育足够时间后，洗涤除去未结合的成分。依次加入底物 A、B，底物（TMB）在辣根过氧化物酶（HRP）催化下转化为蓝色产物，在酸的作用下变成黄色，颜色的深浅与样品中大鼠 8 羟基脱氧鸟苷（8-OHdG）浓度呈正相关，450nm 波长下测定 OD 值，根据标准品和样品的 OD 值，计算样本中大鼠 8 羟基脱氧鸟苷（8-OHdG）含量。

【试剂盒组成】

1	酶标包被板	12 孔×8 条	7	显色剂 A 液	6mL
2	标准品	0.3mL×6 管	8	显色剂 B 液	6mL
3	20 倍浓缩洗涤液	25mL	9	终止液	6mL
4	样本稀释液	6mL	10	说明书	1 份
5	特殊稀释液	6mL	11	封板膜	2 张
6	酶标试剂	6mL	12	密封袋	1 个

备注：标准品（1 号→6 号）浓度依次为：80、40、20、10、5、2.5 pg/mL。

【需要而未提供的试剂和器材】

- 1、37℃ 恒温箱
- 2、标准规格酶标仪
- 3、精密移液器及一次性吸头
- 4、蒸馏水
- 5、一次性试管
- 6、吸水纸

【操作步骤】

- 1、准备：从冰箱取出试剂盒，室温复温平衡 30 分钟。
- 2、配液：用蒸馏水将 20 倍浓缩洗涤液稀释成原倍的洗涤液。
- 3、加标准品和待测样本：取足够数量的酶标包被板，固定于框架上，分别设置标准品孔、



待测样本孔和空白对照孔，记录各孔位置，在标准品孔中加入标准品 50 μ L；待测样本孔中先加入待测样本 10 μ L，再加样本稀释液 40 μ L（即样本稀释 5 倍）；空白对照孔不加。

4、温育：37 $^{\circ}$ C 水浴锅或恒温箱温育 30min。

5、洗板：弃去液体，吸水纸上拍干，每孔加满洗涤液，静置 1min，甩去洗涤液，吸水纸上拍干，如此重复洗板 4 次（也可用洗板机按说明书操作洗板）。

6、加酶标工作液：每孔加入酶标工作液 50 μ L，空白对照孔不加。

7、温育：37 $^{\circ}$ C 水浴锅或恒温箱温育 30min。

8、洗板：弃去液体，吸水纸上拍干，每孔加满洗涤液，静置 1min，甩去洗涤液，吸水纸上拍干，如此重复洗板 4 次（也可用洗板机按说明书操作洗板）。

9、显色：每孔先加入显色剂 A 液 50 μ L，再加入显色剂 B 液 50 μ L，平板混匀器混匀 30s（或用手轻轻震荡混匀 30s），37 $^{\circ}$ C 避光显色 15min。

10、终止：取出酶标板，每孔加终止液 50 μ L，终止反应（颜色由蓝色立转黄色）。

11、测定：以空白孔调零，在终止后 15 分钟内，用 450nm 波长测量各孔的吸光值（OD 值）。

12、计算：根据标准品的浓度及对应的 OD 值，计算出标准曲线的直线回归方程，再根据样本的 OD 值，在回归方程上计算出对应的样品浓度，也可以使用各种应用软件来计算。最终浓度为实际测定浓度乘以稀释倍数。

【样本要求】

1、样本不能含叠氮钠（NaN₃），因为叠氮钠（NaN₃）是辣根过氧化物酶（HRP）的抑制剂。

2、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。若不能立即试验，可将标本放于-20 $^{\circ}$ C 保存，但应避免反复冻融。

3、样本应充分离心，不得有溶血及颗粒。

【注意事项】

1、实验严格按照说明书的操作进行，实验结果判定必须以酶标仪读数为准。

2、酶标包被板开封后如未用完，应立即装入密封袋中加干燥剂保存。

3、建议所有的标准品、样本和空白对照都做双份检测，取平均值，以减小实验误差。

4、牢记样本已经稀释 5 倍，计算结果乘以 5 才是样本实际浓度。

5、本试剂盒定量范围为 2.5-80pg/mL，超过此范围，为标准曲线延伸计算所得，不做为准确定量结果，请用特殊稀释液稀释后测定准确结果（2.5-80pg/mL 范围内），乘以总稀释倍数即为样本最终浓度。

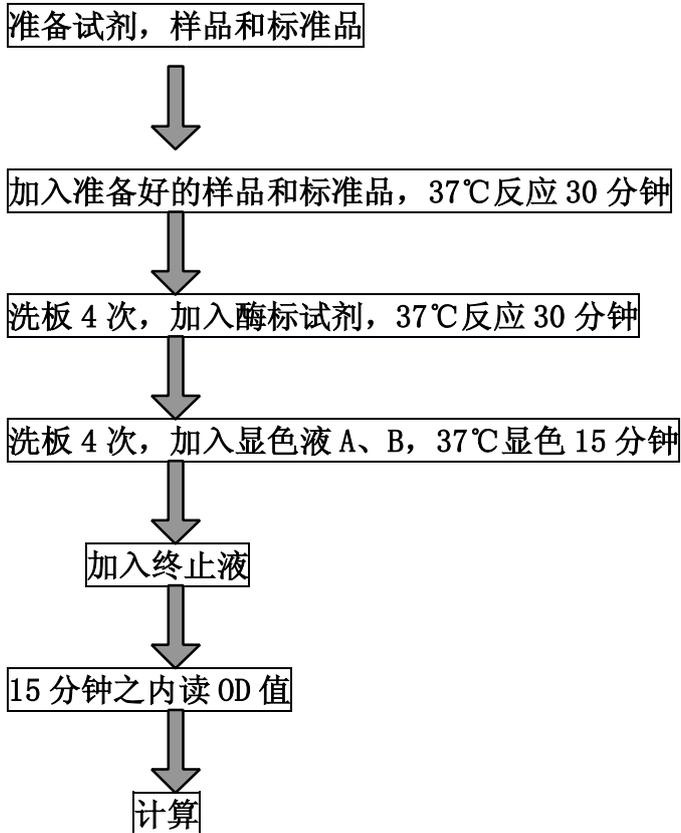
6、若显色过浅，可适当延长底物温育时间。

7、为避免交叉污染，标准品、样本和空白对照每加一个就要更换一次吸头；酶标工作液、样本稀释液和底物等公共组分，要悬臂加样，不得碰到微孔；不得重复使用封板膜。

8、试剂盒保质期内使用，不同批号的试剂不得混用。

9、底物 B 对光敏感，避免长时间暴露于光下。

【操作程序总结】



【检测范围】

2.5pg/mL - 80pg/mL

【规格】

96 人份/盒

【贮藏】

2-8℃，避光防潮保存。

【有效期】

6 个月