

人泛素羧基末端水解酶 L1 (UCHL1)

酶联免疫试剂盒

Catalog Number: BSKV0036

本试剂盒用于定量检测人血清、血浆或细胞培养上清液等样本中泛素羧基末端水解酶 L1 (UCHL1) 含量。使用前请仔细阅读说明书并检查试剂组分，如有任何疑问请与北京博奥森生物技术有限公司联系，公司将为您提供强有力的技术支持。

仅供研究，不用于临床诊断

检测原理:

本试剂盒采用 ELISA 双抗体夹心法原理。用纯化的 UCHL1 抗体包被微孔板，向已包被的微孔板中依次加入标准品及待测样本与辣根过氧化物酶（HRP）标记的 UCHL1 抗体，使固相载体上形成抗体-抗原-酶标抗体复合物，经过彻底洗涤后加入底物 TMB 显色。TMB 在 HRP 酶的催化作用下转化成蓝色，并在酸的作用下最终转化成黄色。颜色的深浅和样本中的 UCHL1 含量呈正相关。用酶标仪 450 nm 波长下测定吸光值（OD 值），通过绘制标准曲线计算样本中 UCHL1 浓度。

试剂盒组成:

试剂盒组成	规格（96T）	保存条件
抗体包被板条	8×12	2-8℃保存
冻干标准品	2 支（10 ng/支）	2-8℃保存
标准品/样本稀释液	25 ml×1 瓶	2-8℃保存
酶标抗体浓缩液（100×）	60 μl×2 瓶	2-8℃保存
酶标抗体稀释液	15 ml×1 瓶	2-8℃保存
浓缩洗涤液（20×）	25 ml×1 瓶	2-8℃保存
显色底物（避光）	12 ml×1 瓶	2-8℃保存
终止液	6 ml×1 瓶	2-8℃保存
封板胶纸	2 张	

其它实验材料（不提供，但可协助购买）:

1. 酶标仪（主波长 450 nm，参考波长 630 nm）
2. 高精度可调移液器（已校准）及吸头：0.5-10、2-20、20-200、200-1000 μl。

一次检测样本较多时，建议使用多通道移液器。

3. 自动洗板机或洗瓶
4. 37 °C 温箱

5. 坐标纸
6. 量筒
7. 微量振荡器
8. 双蒸水或去离子水

注意事项:

1. 试剂盒保存在 2-8 °C，未用完的标准品，建议丢弃。不可混合使用不同来源或不同批号的试剂盒组分，请在有效期内使用本产品。
2. 浓缩洗涤液低温取出可能会伴有结晶析出，稀释时可在水浴中加热助溶，不影响使用。
3. 各步加样均应使用移液器，并经过校准，以免产生误差。建议一次加样时间最好控制在 5 分钟内，如样本数量较多，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。如样本中待测物质含量高于试剂盒检测上限（样本 OD 值大于标准品孔第一孔的 OD 值），请先用样本稀释液稀释一定的倍数（n 倍）后再测定，计算时需乘以总稀释倍数。
5. 为避免交叉污染，在加入不同浓度的标准品、不同样本、不同试剂时谨记及时更换吸头，封板胶纸只限一次性使用。
6. 酶标抗体浓缩液及显色底物请避光保存，显色底物在添加之前，应保持无色，请勿使用已变为蓝色的显色底物。
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。

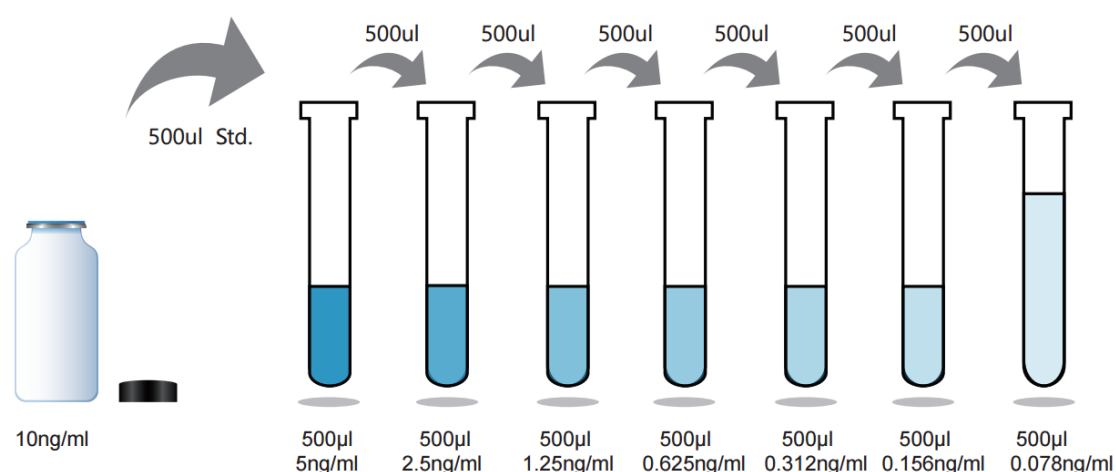
样本收集、处理及保存方法:

1. 血清：室温血液自然凝固 30 分钟，离心 20 分钟（2000-3000 转/分）。仔细收集上清，若保存过程中出现沉淀，应再次离心，避免反复冻融。
2. 血浆：根据样本的要求选择 EDTA 或柠檬酸作为抗凝剂，离心 20 分钟左右（2000-3000 转/分）。仔细收集上清，若保存过程中出现沉淀，应再次离心。

3. 细胞上清液：检测分泌性的成分时，用无菌管收集。离心 20 分钟左右（2000-3000 转/分）。仔细收集上清。
4. 若样本无法立即检测，请将其按最小使用量分装，-20℃—-70℃保存，避免反复冻融。尽量避免使用溶血或高血脂样本。如果血清中含有大量颗粒，检测前先离心或过滤去除；室温下解冻，请勿于 37℃或更高的温度加热解冻。
5. 不能检测含 NaN₃ 的样本，因 NaN₃ 抑制辣根过氧化物酶的活性。
6. 请根据实际情况，将样本做适当倍数稀释（建议根据预试验结果确定稀释倍数）。

试剂准备：

1. 试剂回温：请在实验前将试剂盒和待测样本置于室温下回温。
2. 洗涤液配制：根据浓缩洗液的浓缩倍数，用双蒸水或去离子水进行相应倍数稀释后备用。
3. 标准品梯度稀释：取出试剂盒标准品，取 1ml 标准品/样本稀释液至冻干标准品中，静置 15 分钟待其完全溶解后轻轻混匀(浓度为 10 ng/ml)，然后再取 7 只聚丙烯试管，各加入 500 μl 标准品/样本稀释液，依次进行 2 倍稀释即：5、2.5、1.25、0.625、0.312、0.156、0.078 ng/ml。5ng/ml 标准品试管为标准曲线最高点浓度，标准品/样本稀释液作为标准曲线的零点（0 ng/ml）。



4. 酶标抗体工作液：根据试验所需用量，用酶标抗体稀释液将酶标抗体浓缩液进行 100 倍稀释，例如 99 μl 酶标抗体稀释液加 1 μl 酶标抗体浓缩，请于 30 min 内使用（备注酶标抗体浓缩取量最小为 1 μl ，不能低于 1 μl ）。

操作步骤：

1. 加样：根据试验所需用量，取出相应抗体包被板条，分别将已配制好的标准品、标准品零点（标品/样本稀释液）及待测样本以 100 μl /孔加入实验孔底部，尽量不触及孔壁，充分混匀。
2. 温育：用封板胶纸封板后置 37 °C 孵育 90 min。
3. 洗涤：小心揭掉封板膜，弃去液体，甩干，每孔加 300 μl 洗涤液，静置 30 秒后弃去，如此重复 5 次，拍干。
4. 加酶结合物：在各实验孔加入酶标抗体工作液（100 μl /孔）。
5. 温育：用封板胶纸封板后置 37 °C 孵育 60 min。
6. 洗涤：小心揭掉封板膜，弃去液体，甩干，每孔加 300 μl 洗涤液，静置 30 秒后弃去，如此重复 5 次，拍干。
7. 显色：每孔加入 100 μl 显色底物，用封板胶纸封板后 37°C 显色 10-20 min。
8. 终止：每孔加终止液 50 μl （此时蓝色立转黄色）。
9. 测定：用酶标仪 450 nm 波长测定各孔的吸光度（OD 值），测定应在加终止液后 5 min 以内进行。

结果判定：

1. 每个标准品和样本的 OD 值减去空白孔的 OD 值，为最终数值，如果做复孔，求其平均值。
2. 使用计算机软件以吸光度 OD 值为纵坐标(Y)，相应的 UCHL1 标准品浓度为横坐标(X)，生成相应的标准曲线，样本的 UCHL1 含量可根据其 OD 值由标准曲线

换算出相应的浓度。若样本 OD 值高于标准品曲线上限，请做适当倍数稀释，计算样本浓度时需乘以相应稀释倍数。

Concentration (ng/mL)	Optical Density (450nm)
5	3.059
2.5	1.811
1.25	0.966
0.625	0.606
0.312	0.297
0.156	0.189
0.078	0.128
0	0.079