

LCMV ELISA KIT说明书

1、 试剂盒简介

此LCMV试剂盒，采用间接法酶联免疫吸附试验。依次往预包被LCMV抗原的酶标板微孔中加入样本、HRP标记二抗，经过孵育并彻底洗涤。用底物TMB显色后终止液终止反应。再用酶标仪在波长450nm（参比波长630nm）处测定吸光度（OD值），从而判定检测样品中抗LCMV抗体（LCMV-IgG-Ab）的存在与否。

2、 试剂盒组分：

序号	名称	配置
1	LCMV预包被酶标板（96T）	1块
2	稀释缓冲液	1瓶（30 mL）
3	浓缩洗涤液（10X）	1瓶（30 mL）
4	酶标山羊抗人二抗	1瓶（20 μ L）
5	TMB显色液	1瓶（13 mL）
6	终止液（2M，H ₂ SO ₄ ）	1瓶（8 mL）
7	使用说明书	1份

3、 样品收集、处理及保存方法

3.1 血清：用不含热源和内毒素的试管，收集血液后，等待血液凝固。3000rpm离心10min将血清和血细胞迅速小心地分离。

3.2 血浆：EDTA、柠檬酸盐或肝素抗凝，3000rpm离心10min取上清。

3.3 细胞上清液：3000rpm离心10min去除颗粒和聚合物。

3.4 组织匀浆：将组织加入适量生理盐水捣碎，3000rpm离心10min取上清。

3.5 保存：如果样品收集后不及时检测，请按一次使用量分装，冻存于-20℃，避免反复冻融；使用前在室温下解冻并确保样品均匀地充分混匀。

4、实验器材：

酶标仪（波长450 nm），10 μ L、100 μ L、1 mL移液器，300 μ L多道移液器，移液器吸头、37°C恒温水浴箱。

5、操作步骤：

5.1 将浓缩洗涤液（10X）用蒸馏水做10倍稀释，配制成工作洗涤液。

5.2 取出包被有LCMV抗原的96孔酶标板在室温平衡回温，在加样品前拆开密封的铝箔袋。

5.3 将待检样本用稀释缓冲液做1: 200稀释，100 μ L/孔，加入各反应孔。（加样过程须在15 min内完成）

5.4 置37°C恒温培养箱避光反应1 h，孵育完成后弃液，并用工作洗涤液250 μ L/孔洗涤90s，洗涤三遍，在无纤维纸上拍干。

5.5 根据待测样品数量取相应体积的酶标山羊抗人二抗并用稀释缓冲液1:1000倍稀释（现用现配），100 μ L/孔，置37°C恒温培养箱避光反应1 h。工作洗涤液250 μ L/孔洗涤90s，洗涤四遍，在无纤维纸上拍干。

5.6 用移液器加TMB底物显色液100 μ L/孔（提前恢复至室温），37°C避光反应5 min，请勿震荡。

5.7 移液器加终止液50 μ L/孔，稍微震荡5s混匀。

5.8 15min内用酶标仪450 nm波长处读数。

6、注意事项：

6.1 试剂盒各组分使用前应室温平衡至少20min。浓缩洗涤液复温前瓶底会有结晶物，切记完全溶解后再做稀释用。

6.2 样品如为冻干制剂，应用样品稀释液充分溶解混匀后再用。

- 6.3 反应时应将酶标板放入洁净的密闭空间中，防止反应孔中落入异物。
- 6.4 洗涤拍干后，应消除各孔内残余的气泡。
- 6.5 开封后，将未使用的板条放回加入干燥剂的密封铝箔袋中，置4℃密闭保存。
- 6.6 在操作过程中，使用全新洁净的移液器吸头、洗涤机（瓶）、器皿等。
- 6.7 **本试剂盒仅供科研使用，不得用于临床实验和人体实验，否则所产生的一切后果，由实验者承担，本公司概不负责。**

7、结果判定：

- 7.1 实验结果须满足以下有效参数为成立：

阳性孔参考值： $OD_{450} > 0.100$ ；阴性孔参考值： $OD_{450} \leq 0.100$

