

## 大鼠 Ki-67 蛋白 (Ki67P) ELISA 试剂盒实验原理

### BS-8518 大鼠 Ki-67 蛋白 (Ki67P) ELISA 试剂盒

#### 实验原理:

本试剂盒应用双夹心法测定标本中 Ki-67 蛋白 (Ki67P) 水平。用纯化的 Ki-67 蛋白 (Ki67P) 捕获包被微孔板, 制成固相, 往包被的微孔中依次加入 Ki-67 蛋白 (Ki67P), 再与 HRP 标记的检测结合, 形成-抗原-酶标复合物, 经过洗涤后加底物 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 Ki-67 蛋白 (Ki67P) 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 Ki-67 蛋白 (Ki67P) 含量。

#### 样品采集:

收集标本前必须清楚要检测的成份是否足够稳定。对收集后当天进行检测的标本, 储存在 4℃ 备用, 如有特殊原因需要周期收集标本, 将标本及时分装后放在 -20℃ 或 -70℃ 条件下保存。避免反复冻融。标本 2-8℃ 可保存 48 小时, -20℃ 可保存凝血因子 IX ELISA 试剂盒

#### 自备物品:

- 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

#### 大鼠 Ki-67 蛋白 (Ki67P) ELISA 试剂盒实验原理样本处理及要求:

1. 血清: 室温血液自然凝固 10-20 分钟, 离心 20 分钟左右 (2000-3000 转/分)。仔细收集上清, 保存过程中如出现沉淀, 应再次离心。

2. 血浆: 应根据标本的要求选择 EDTA 或柠檬酸钠作为抗凝剂, 混合 10-20 分钟后, 离心 20 分钟左右 (2000-3000 转/分)。仔细收集上清, 保存过程中如有沉淀形成, 应该再次离心。

3. 尿液: 用无菌管收集, 离心 20 分钟左右 (2000-3000 转/分)。仔细收集上清, 保存过程中如有沉淀形成, 应再次离心。胸腹水、脑脊液参照实行。

4. 细胞培养上清:检测分泌性的成份时,用无菌管收集。离心 20 分钟左右(2000-3000 转/分)。仔细收集上清。检测细胞内的成份时,用 PBS (PH7. 2-7. 4) 稀释细胞悬液,细胞浓度达到 100 万/ml 左右。通过反复冻融,以使细胞破坏并放出细胞内成份。离心 20 分钟左右(2000-3000 转/分)。仔细收集上清。保存过程中如有沉淀形成,应再次离心。

5. 组织标本:切割标本后,称取重量。加入一定量的 PBS, PH7. 4。用液氮迅速冷冻保存备用。标本融化后仍然保持 2-8℃ 的温度。加入一定量的 PBS (PH7. 4), 用手工或匀浆器将标本匀浆充分。离心 20 分钟左右(2000-3000 转/分)。仔细收集上清。分装后一份待检测,其余冷冻备用。

6. 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。

7. 不能检测含 NaN<sub>3</sub> 的样品,因 NaN<sub>3</sub> 辣根过氧化物酶的(HRP)活性。

#### 实验步骤

标准品稀释:用标准品稀释液将标准品梯度稀释为 0、1. 37、4. 11、12. 33、37、111、333、1000 pg/mL。

加样:每孔加入 50 μL 标准品或样本, 37℃ 孵育 30 分钟。

洗板:弃去液体,用洗涤液洗板 5 次,拍干。

加酶标二抗:每孔加入 50 μL 酶标试剂, 37℃ 孵育 30 分钟。

显色:加入 TMB 显色液 A/B 各 50 μL, 避光孵育 15 分钟。

终止与检测:加入 50 μL 终止液,立即用酶标仪 450nm 读数。

#### 结果计算

绘制标准曲线(IL-11 浓度 vs. OD 值)。

根据样本 OD 值代入回归方程计算实际浓度,乘以稀释倍数。

**操作程序总结：**

准备试剂，样品和标准品

加入准备好的样品和标准品，37°C反应30分钟

洗板5次，加入酶标试剂，37°C反应30分钟

洗板5次，加入显色液A、B，37°C显色10分钟

加入终止液

15分钟之内读 OD 值

计算

**注意事项**

实验环境：避免 NaN<sub>3</sub> 干扰 (HRP 活性) 。

样本保存：-20°C 短期保存，-80°C 长期保存，避免反复冻融。

注：仅供科研使用，以上资料供参考，如需具体产品说明请咨询技术老师或品牌供应商。

大鼠 Ki-67 蛋白 (Ki67P) ELISA 试剂盒实验原理 本生一直视质量控制为企业的生命，追求企业竞争力的不断提升。公司在经营中始终秉承：遵纪守法，严于律己，宽仁以待，敢于承担的企业精神作为标准，以过硬的质量和优良的服务来维护和拓展市场，较大限度的满足客户的需求。与客户的共赢，是我们的发展目标。本生!您信任的合作伙伴。我们愿与您真诚合作，共创美好的未来。本生试剂盒