人贝伐单抗定量ELISA检测试剂盒

（酶联免疫分析法）

【产品名称】

人贝伐单抗定量ELISA检测试剂盒

【规格】

96 Tests

【货号】

RAS-T122

【检测原理】

本试剂盒应用ELISA夹心法。微孔板预包被了Anti-Bevacizumab Antibody，样本中的Bevacizumab与微孔板上固定的Anti-Bevacizumab Antibody结合，然后加入Biotin-Anti-Bevacizumab Antibody，形成抗体-抗原-生物素标记抗体复合物，最后加入Streptavidin-HRP，用底物显色，随后用终止液终止，板孔中溶液会由蓝色变为黄色，使用酶标仪在450 nm和630 nm处测定样品吸光度值（$OD_{450\,nm}$ 、$OD_{630\,nm}$），OD值与样本中的人贝伐单抗(Bevacizumab)含量呈正相关。

【产品组份】

表1.产品组份

ID	组份名称	规格 (96 T)	物理状态	存储条件	
				未开启	已开启
RAS122-C01	Pre-coated Anti-Bevacizumab Antibody Microplate	1 plate	固体	2-8℃	2-8℃
RAS122-C02	Bevacizumab Standard	100 µL	液体	2-8℃	2-8℃
RAS122-C03	Biotin-Anti-Bevacizumab Antibody	100 µL	液体	2-8℃	2-8℃

US and Canada: Tel: +1 800-810-0816
Asia and Pacific: Tel: +86 400-682-2521
Web: http://www.acrobiosystems.com
E-mail: order@acrobiosystems.com

RAS122-C04	Streptavidin-HRP	50 μL	液体	2-8°C，避光	2-8°C，避光
RAS122-C05	10xWashing Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS122-C06	2xDilution Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS122-C07	Substrate Solution	12 mL	液体	2-8°C，避光	2-8°C，避光
RAS122-C08	Stop Solution	7 mL	液体	2-8°C	2-8°C

【运输和储存条件】

1. 未开封：试剂盒保存于2-8°C，试剂盒自生产之日起有效期为12个月，有效期见外包装盒标签。

2. 已开封：试剂盒开封后各组分按照表1存贮条件保存，有效期自开封之日起为30天，未使用完的微孔板条需与干燥剂一起密封保存。

3. 试剂盒在室温下运输，并已经过验证。如果您需要蓝冰运输，请联系我们，但可能需要额外运费。

注：不要使用过期试剂。

【需要但未提供的实验仪器与耗材】

1. 单道、多道微量移液器和移液器吸头：需满足10 μL、300 μL、1000 μL加样需求
2. 恒温培养箱
3. 酶标仪，含450 nm/630 nm波长
4. 离心管：1.5 mL，10 mL
5. 计时器
6. 试剂瓶
7. 超纯水或去离子水

【试剂准备】

使用前将所有试剂恢复至室温（20°C-25°C）。如果溶液中有晶体形成，需平衡溶液至晶体完全溶解（可将溶液放置于恒温培养箱37°C平衡10-15 min）。

【检测流程】

US and Canada: **Tel**: +1 800-810-0816
Asia and Pacific: **Tel**: +86 400-682-2521
Web: http://www.acrobiosystems.com
E-mail: order@acrobiosystems.com

1. 工作液配制

1.1 配制1xWashing Buffer：

取50 mL 10xWashing Buffer，用超纯水/去离子水稀释并定容至500 mL，轻轻混匀。

1.2 配制1xDilution Buffer：

取50 mL 2xDilution Buffer，用1xWashing Buffer稀释并定容至100 mL，轻轻混匀。

1.3 配制Biotin-Anti- Bevacizumab Antibody工作液：

用1xDilution Buffer将Biotin-Anti- Bevacizumab Antibody稀释400倍，该工作液需现用现配。

1.4 配制Streptavidin-HRP工作液：

用1xDilution Buffer将Streptavidin-HRP进行2000倍稀释，该工作液需避光保存，现用现配。

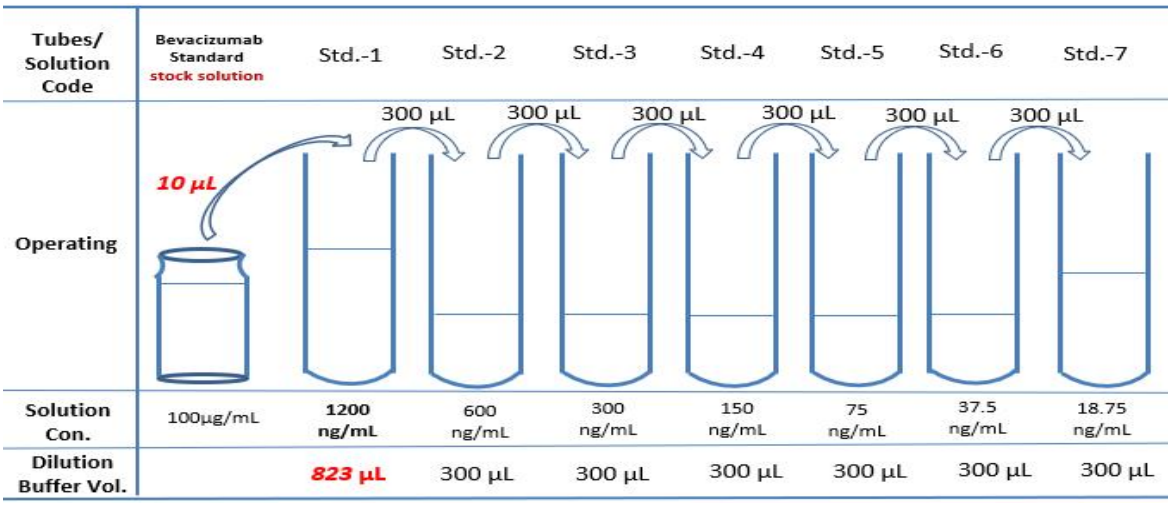
1.5 待测样本前处理：

a. 若待测样本为细胞上清，用1xDilution Buffer进行2倍稀释，样本与稀释液的体积比为1:1。

b. 若待测样本为血清，用1xDilution Buffer进行20倍稀释，样本与稀释液的体积比为1:19。

2. 制备标准曲线

标准品（RAS122-C02）的浓度为 100 μg/mL，取 10 μL 的标准品，加入到 823 μL 的稀释液中，作为标准曲线的最高浓度 **Std.-1（1200 ng/mL）**。在后续每一个离心管中加入 300 μL 稀释液，使用高浓度标准品做 1:1 系列稀释。每次移液时，确保充分混匀。以稀释液作为标准曲线的零浓度。



US and Canada: Tel: +1 800-810-0816
Asia and Pacific: Tel: +86 400-682-2521
Web: http://www.acrobiosystems.com
E-mail: order@acrobiosystems.com

3. 加样

将待测样品和系列稀释后的标准品加入反应孔内，每孔加入 100 μL。空白对照孔加入 100 μL Dilution Buffer。

注：待测样品和标准曲线建议设置复孔。

4. 孵育

用封板膜封板，室温孵育 1.0 h。

5. 洗板

小心揭开封板膜，弃去孔中液体，每孔加入 300 μL 1xWashing Buffer，浸泡 10 s，共洗板 3 次。每次洗板后，需在吸水纸上拍干。

6. 加 Biotin-Anti-Bevacizumab Antibody 工作液

在对应板孔内加入 100 μL 稀释的 Biotin-Anti-Bevacizumab Antibody（1:400 稀释），该工作液现用现配。

7. 孵育

用封板膜封板，室温孵育 1.0 h。

8. 洗板

重复步骤 5 洗板。

9. 加 Streptavidin-HRP 工作液

在对应板孔内加入 100 μL 稀释的 Streptavidin-HRP（1:2000 稀释），该工作液现用现配，避光保存。

10. 孵育

用封板膜封板，室温孵育 30 min。

11. 洗板

US and Canada: Tel: +1 800-810-0816
Asia and Pacific: Tel: +86 400-682-2521
Web: http://www.acrobiosystems.com
E-mail: order@acrobiosystems.com

重复步骤 5 洗板。

12. 显色

每孔加入 100 μL Substrate Solution。用封板膜封板，需避光，室温孵育 20 min。

13. 终止

每孔加入 50 μL Stop Solution，轻轻震荡酶标板至混合均匀。

注: 孔中液体由蓝色完全变为黄色。

14. 读数

用酶标仪测定各孔在 450 nm 和 630 nm 波长的吸光值，请在终止后 10 分钟内读数。

注: 各孔 $OD_{450\ nm}$扣除$OD_{630\ nm}$读值可降低背景干扰。

【结果分析】

a. 将标准品和样本的复孔读数求取平均值，然后减去零浓度标准品的 OD 值。

b. 以标准品的浓度作为横坐标，OD 值作为纵坐标，利用四参数拟合绘制标准曲线，进行样本浓度的计算，计算浓度时需乘以相应的稀释倍数。若利用直线回归拟合，需选取合适的绘制区间，从而得到最佳的拟合曲线，保证回归分析的准确性。

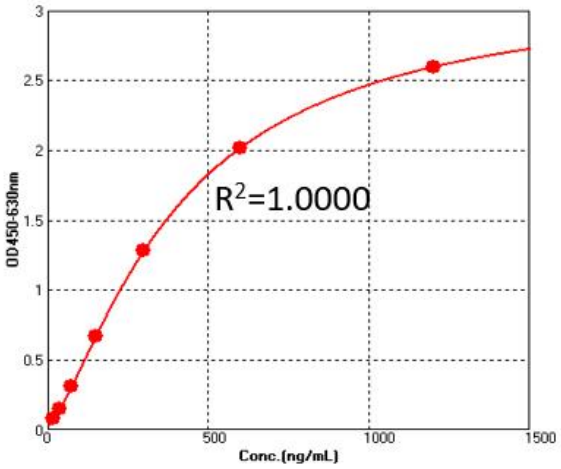
c. 标准曲线 R^2 应大于 0.9900。

d. 标准曲线范围：18.8 ng/mL-1200 ng/mL。大于分析标准曲线范围的样品应报告为大于 1200 ng/mL 或稀释样品使其在线性范围内。小于分析标准曲线的样品应报告为小于 18.8 ng/mL。

US and Canada: Tel: +1 800-810-0816
Asia and Pacific: Tel: +86 400-682-2521
Web: http://www.acrobiosystems.com
E-mail: order@acrobiosystems.com

【典型数据】

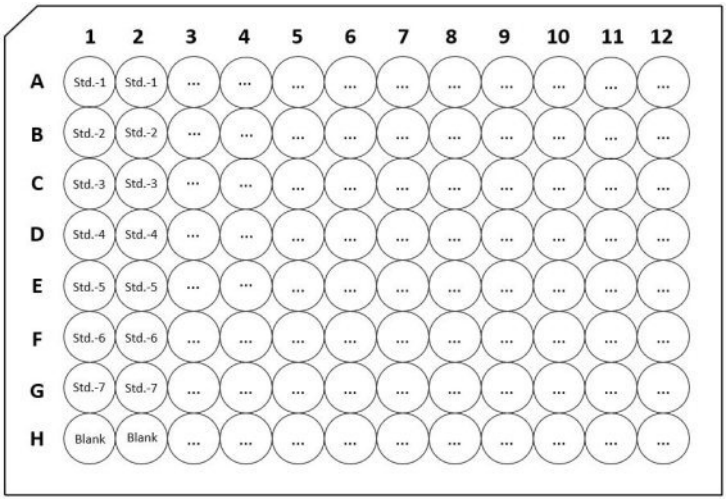
每次实验，每块酶标板都需要设置标准曲线，以下标准曲线数据仅供参考。



Bevacizumab (ng/mL)	OD450-630nm	OD450-630nm-Blank
1200	2.658	2.597
600	2.080	2.019
300	1.347	1.286
150	0.731	0.670
75	0.369	0.308
37.5	0.209	0.148
18.75	0.138	0.077
Blank	0.061	0.000

【PLATE LAYOUT】

建议使用此平板布局记录标准品和样品



注：Blank为空白对照Dilution Buffer孔。

US and Canada: **Tel**: +1 800-810-0816
Asia and Pacific: **Tel**: +86 400-682-2521
Web: http://www.acrobiosystems.com
E-mail: order@acrobiosystems.com