

产品名称

DNase I 检测试剂盒（酶联免疫吸附法·一步法）

规格

96 T/盒

预期用途

本试剂盒用于样品中 DNase I 的定量检测，仅供研究使用。

检验原理

本产品使用双抗体夹心 ELISA 测定样品中的 DNase I 含量。在固相载体酶标板上包被抗 DNase I 特异性单克隆抗体，加入抗 DNase I 酶标结合物和标准品或待测样品充分混合反应，形成抗体-抗原-抗体-HRP 复合物。经洗涤后，加入 TMB（3,3',5,5'-四甲基联苯胺）显色液反应，TMB 在 HRP 酶的催化下由无色转化成蓝色并在酸的作用下最终转化成黄色。黄色深浅与待测样本中 DNase I 的含量呈正相关。

主要组成成分

	组分	规格	储存温度
盒 1	DNase I 标准品（25.6 µg/mL）	40 µL×1 管	-20°C
盒 2	抗 DNase I 抗体预制酶标板	12×8, 96T	2-8°C
	浓缩洗液（20×）	50 mL×1 瓶	
	样本稀释液	50 mL×1 瓶	
	抗 DNase I 酶标结合物工作液	13 mL×1 瓶	
	显色液	13 mL×1 瓶	
	终止液	7 mL×1 瓶	
	封板膜	2 张	
	说明书	1 份	

注：本试剂盒不可与其他商品化试剂盒混用。

未提供但需准备：涡旋振荡器、洗板机、微孔板振荡器、酶标仪，超纯水、微量移液器与配套灭菌枪头、吸水纸等耗材。

储存条件及有效期

- 盒 1 于-20°C 保存，盒 2 于 2-8°C 避光保存，有效期为 12 个月。
- 酶标板拆封使用后，剩余部分应放于铝箔袋中密封，在 2-8°C 保存。
- 盒 1、盒 2 使用结束需及时放回相对应的储存条件下保存。
- 盒 1 中试剂应减少反复冻融次数。

5. 产品批号及有效期见产品包装标签。

检测方法

1. 实验前准备

将所需试剂放至室温平衡 30min

2. 试剂配制方法

A、标准品系列的配制

管号	标准液浓度 (ng/mL)	标准液体积 (μ L)	样品稀释液体积 (μ L)	总体积 (μ L)	标准品终浓度 (ng/mL)	剩余体积 (μ L)
A	25600	2	798	800	64	500
B	64	300	300	600	32	300
C	32	300	300	600	16	300
D	16	300	300	600	8	300
E	8	300	300	600	4	300
F	4	300	300	600	2	300
G	2	300	300	600	1	600
H	/	0	300	300	0	300

B、工作浓度 1 \times 洗液的配制：浓缩洗液平衡至室温后，充分混匀。按实验需要计算所需洗液用量，按浓缩洗液：超纯水=1：19 体积比进行稀释配制。

3. 检测步骤

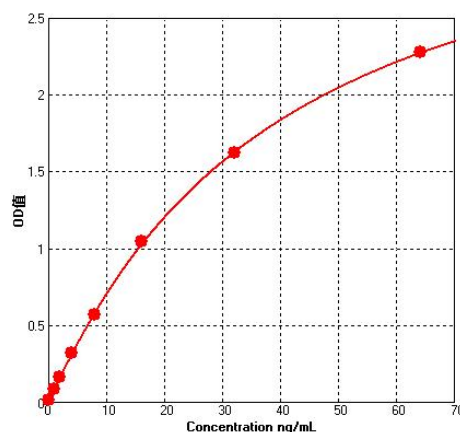
- 酶标板孔排列：根据实验量从铝箔袋中取出相应数量板条，剩余的板条放回铝箔袋中密封好，2-8 $^{\circ}$ C 保存。
- 加酶标结合物和样品：使用前将酶标结合物工作液摇匀，每孔加 HRP100 μ L，随后每孔加标准品或待测样品 100 μ L，用封板膜封板后置微孔板振荡器室温孵育 120 分钟
- 洗涤：弃去各孔内液体，用 PBST 洗液注满微孔（350 μ L/孔），静置 30 秒后弃去孔内液体；重复 4 次，最后一次洗板完成后在面巾纸上拍干。
- 显色：每孔分别加单组份显色液 100 μ L，室温避光静置显色 15 分钟。
- 测定：每孔加终止液 50 μ L，轻微混匀。选择酶标仪主波长 450nm，参考波长 630nm，测定各孔吸光值。

结果分析

- 初次使用本产品，建议对待测样品稀释 3 个浓度梯度做预实验，比如 10 倍、100 倍、500 倍，确保其中一个稀释度的检测结果能落在检测区间内。后续检测根据预实验结果做样品稀释。
- 建议用样本稀释液稀释待测样品将 mRNA 浓度降至 100 μ g/mL 及以下，再进行样品检测。
- 如待测样品浓度的 OD 值超出标准曲线最高值，宜对样品做进一步稀释再检测。
- 本试剂盒建议以标准品浓度作为横坐标，OD 值为纵坐标绘制标准曲线，采用四参数方式进行曲线拟合。标准曲线相关系数 $R^2 \geq 0.99$ ，否则实验无效。
- 如有设置复孔，应先计算其平均值。

6) 以理论浓度标准品绘制的标准曲线如下

DNase I 浓度 ng/mL	O 均值
64	2.275
32	1.621
16	1.047
8	0.570
4	0.322
2	0.164
1	0.092
0	0.016



7) 将待测样品测定的 OD 值代入标准曲线的拟合方程中，计算出样品浓度，即为待测样品中 DNase I 浓度。如待测样品有被稀释，计算结果时应乘以稀释倍数。

产品性能

本试剂盒经充分评估，标曲范围为 1-64 ng/mL，检测限为 0.2 ng/mL；板内精密性小于 10%，板间精密性小于 15%；准确度为 80-120%。

本试剂盒仅用于检测样品中 DNase I 的含量。

注意事项

- 1) 使用本试剂盒前，请详细阅读产品说明书。
- 2) 请在试剂盒标识的有效期内使用产品，各组分按标签条件储存。
- 3) 所有组分在使用前需平衡至室温，液体试剂充分混匀后再取样。
- 4) 预制酶标板为可拆卸板条，可根据实验需求拆卸。剩余未用部分请及时放回含干燥剂的铝箔袋中，密封低温保存。应避免对酶标板底部刮花或其他影响光密度测量的操作。
- 5) 标准品体积较小，使用前可用高速离心机将管壁、管盖上的液滴沉积至管底。
- 6) 封板膜不可重复使用。不同批号的试剂组分不可混用，微量移液器枪头为一次性使用，以免交叉污染。
- 7) 洗板推荐使用洗板机，洗板过程中避免串流或气泡，以防影响实验结果准确性。最后一次洗板后，应将板孔中残留的液体甩干。
- 8) 结果判读，请在反应终止后 15 min 内进行。
- 9) 每次测定时，需生成新的标准曲线。
- 10) 为了您的安全和健康，请穿戴实验服与一次性手套。
- 11) 本试剂盒仅限科研使用。