

人乙型肝炎病毒前S1抗原 (HBV preS1Ag)

酶联免疫吸附测定试剂盒

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

使 用 说 明 书

- 货号: JL18622
- 检测范围: 定性检测
- 规格: 5×96T/96T/48T
- 保存温度: 2-8℃
- 种属: 人
- 有效期: 6个月

简介:

乙型肝炎病毒 (HBV) 外膜蛋白包括S、前S2和前S1三种成分。前S1蛋白在病毒侵入肝细胞过程中起重要作用。它位于乙型肝炎病毒外膜蛋白上,它存在于完整的HBV颗粒表面,与HBV的感染及复制关系密切。含有前S1的蛋白主要存在于Dane颗粒和管型颗粒上。前S1蛋白在病毒感染、装配、复制和刺激机体产生免疫反应等方面起有十分重要作用。

实验原理:

本试剂盒采用双抗体夹心法酶联免疫吸附试验 (ELISA)。往预先包被有乙型肝炎病毒前S1捕获抗体的微孔中,依次加入样本、阳性对照品、阴性对照品、HBV preS1酶标记的检测抗体,经过温育和洗涤,用底物TMB显色,TMB在过氧化物酶(HRP)的催化下转化成蓝色,并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和样本中的乙型肝炎病毒前S1抗原(HBV preS1Ag)呈正相关。用酶标仪在450nm波长下测定吸光度 (OD值),判断样本阴阳性。

特异性: 可检测样本中人的HBV preS1Ag, 且与其类似物无明显交叉反应。

注意事项:

1. 严格按照规定的时间和温度进行温育以保证准确结果。所有试剂都必须在使用前达到室温 20-25°C。使用后立即冷藏试剂。
2. 洗板不正确可能导致不准确的结果。在加入底物前确保尽量吸干孔内液体。整个过程中不要让微孔干燥时间过长。
3. 清洁板底残留的液体和手指印，否则影响 OD 值。
4. 底物显色液应呈无色的颜色，已经变蓝的底物液不能使用。
5. 避免试剂和样本的交叉污染以免造成错误结果。
6. 在储存和温育时避免强光直接照射。
7. 任何反应试剂不能接触漂白溶剂或漂白溶剂所散发的强烈气体。任何漂白成分都会破坏试剂盒中试剂的生物活性。
8. 不能使用过期产品，不同货号 and 批号组分不得混用。
9. 试剂盒以外来源的重组蛋白可能会出现与本试剂盒抗体不匹配而不被识别的情况。
10. 如果可能传播疾病，所有的样本都应管理好，按照规定的程序处理样本和检测装置。

试剂盒组成:

| 名称 | 5×96孔配置 | 96孔配置 | 48孔配置 | 备注 |
|---|------------|----------|----------|--------------|
| 预包被 96 孔酶标板 Pre-coated Assay Plate | 5×8 孔×12 条 | 8 孔×12 条 | 8 孔×6 条 | 无 |
| 阳性对照品 Positive control | 5 支 | 1 支 | 1 支 | 无 |
| 阴性对照品 Negative control | 5 支 | 1 支 | 1 支 | 无 |
| 通用稀释液 Universal Diluent | 10×20mL | 2×20mL | 1×20mL | 无 |
| HBV preS1酶标记抗体 Anti-HBs-HRP-antibody | 5×7mL | 1×7mL | 1×3.5mL | 无 |
| 20×洗涤液 Wash Buffer (20×) | 5×25mL | 1×25mL | 1×12.5mL | 按说明书 进行稀释 |
| 底物 (TMB) TMB Substrate | 5×10mL | 10mL | 5mL | 无 |
| 终止液 Stop Solution | 5×6mL | 6mL | 3mL | 无 |
| 封板膜 Plate Sealer | 20 张 | 4 张 | 4 张 | 无 |
| 说明书 Instruction Manual | 1 份 | 1 份 | 1 份 | 无 |

样本处理及要求：

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**，建议实验前通过相关文献预估样本中待测物的浓度并通过预实验确定样本的实际浓度。如果样本中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议做预实验验证其检测有效性。
3. **血清**：将收集于血清分离管的全血样本在室温放置2小时或2-8°C过夜，然后1000×g离心20分钟，取上清即可，或将上清置于-20°C或-80°C保存，但应避免反复冻融。
4. **血浆**：用EDTA或肝素作为抗凝剂采集样本，并将样本在采集后的30分钟内于2-8°C 1000×g离心15分钟，取上清即可检测，或将上清置于-20°C或-80°C保存，但应避免反复冻融。
5. **样本外观**：样本应清澈透明，悬浮物应离心去除。
6. **样本保存**：样本收集后若在1周内进行检测的可保存于4°C，若不能及时检测，请按一次使用量分装，冻存于-20°C（1个月内检测），或-80°C（6个月内检测），避免反复冻融，样本溶血会影响最后检测结果，因此溶血样本不宜进行此项检测。

实验所需自备试验器材：

1. 酶标仪 (450nm)
2. 高精度移液器及吸头：0.5-10 μ L、5-50 μ L、20-200 μ L、200-1000 μ L
3. 37 $^{\circ}$ C恒温箱
4. 蒸馏水或去离子水

检测前准备工作:

1. 请提前10分钟从冰箱中取出试剂盒，平衡至室温。
2. **1×洗涤液配制**：取10mL 20×洗涤液到190mL蒸馏水中（从冰箱中取出的浓缩洗涤液可能有结晶，属于正常现象，可放置室温，待结晶完全溶解后再配制）。

操作步骤：

1. 从室温平衡10分钟后的铝箔袋中取出所需板条，剩余板条用自封袋密封放回4°C。



2. 加样：分别将样本或阳性、阴性对照品按照50 μ L每孔加入相应孔中，空白孔加入50 μ L通用稀释液。不用洗涤，每孔直接加入50 μ L HBV前S1酶标记抗体，轻拍混匀，盖上封板膜后37°C温育60分钟。



3. 洗板：弃去液体，每孔加入300 μ L 1x洗涤液，静置1分钟，甩去洗涤液，吸水纸上拍干，如此重复洗板5次（也可用洗板机洗板）。



4. 加底物：每孔加入50 μ L底物(TMB)，盖上封板膜，37°C避光温育15分钟。



5. 加终止液：取出酶标板，每孔直接加入50 μ L终止液，立即在450nm波长处测定各孔的OD值。

实验结果计算：

临界值(C.O.)的计算：

临界值(C.O.)=阴性对照孔 OD 均值 $N \times 4$

(阴性对照 OD 值 ≤ 0.05 时以 0.05 计算，当 OD 值 > 0.5 时，按实际 OD 值计算)

判定：

1. 样本 OD 值 $S/C.O. \geq 1$ 时，判定样本为阳性；
2. 样本 OD 值 $S/C.O <$ 时，判定样本为阴性；
3. 阳性对照 OD 值 ≤ 4 时，实验无效，应重新试验。

试剂盒性能：

重复性：板内变异系数小于 10%，板间变异系数小于 10%。

参考文献:

1. Wang, N. Y., Zhang, D., Zhao, W., Li, B. A., & Lin, C. Q. (2011).Clinical biochemistry, 44(14-15), 1199-1204.
2. Werle, B., Cinquin, K., Marcellin, P., Pol, S., Maynard, M., Trepo, C., & Zoulim, F. (2004).Journal of viral hepatitis, 11(1), 74-83.
3. Niedre-Otomere, B., Bogdanova, A., Skrastina, D., Zajakina, A., Bruvere, R., Ose, V., ... & Kozlovska, T. (2012).Journal of viral hepatitis, 19(9), 664-673.
4. TU, Z. (2009).Chinese Journal of Primary Medicine and Pharmacy, 55-56.



咨询电话：400-0066-400

传 真：021-55660885

电子邮箱：shjls@163.com

网 址：www.jonln.com