

## 小鼠钙粘蛋白 1 酶联免疫吸附测定试剂盒

产品编号：MA0828 规格：96 次

### 产品内容

产品组成	体积/数量
小鼠 CDH1 预包被板	8 孔条×12 个
样品稀释液	30mL
重组小鼠 CDH1 标准品(冻干)	2 支(10ng/支)
生物素标记小鼠 CDH1 抗体	130 μL(效价 1:100)
抗体稀释液	12mL
酶复合物(HRP 标记的链霉亲和素)	130 μL(效价 1:100)
酶复合物稀释液	12mL
浓缩洗涤液(25×)	30mL
显色剂 TMB	10mL
终止液	10mL
封板胶纸	4 张

### 产品简介

本试剂盒采用双抗体夹心ELISA法，用于检测样品中小鼠CDH1的浓度。小鼠CDH1捕获抗体已经预包被于酶标板上，当加入样品或标准品时，其中的小鼠CDH1会与捕获抗体结合，而其它游离成分则会通过洗涤被除去。接着，再加入生物素标记的小鼠CDH1抗体后，抗小鼠CDH1抗体与小鼠CDH1接合，形成夹心的免疫复合物，其它游离成分则通过洗涤被除去。随后加入酶复合物，生物素与酶复合物特异性结合，这样酶复合物上的HRP就与夹心的免疫复合物连接起来，而其它游离成分则通过洗涤被除去。最后加入显色剂，若样品中存在小鼠CDH1，则会形成免疫复合物，其上连接的HRP会催化无色的显色剂氧化生成蓝色物质，而后加入终止液，最终产物呈黄色。通过酶标仪检测，读取450nm处的OD值，小鼠CDH1浓度与OD450值之间呈正比，通过检测标准品绘制标准曲线，对照未知样品中OD值，即可计算出样品中小鼠CDH1的浓度。

钙粘蛋白1(CDH1)，也被称为E-钙粘蛋白(E-Cadherin)，是一种重要的细胞粘附分子，属于钙粘蛋白超家族的经典成员。它主要在上皮细胞表达，并通过钙依赖的方式介导细胞间粘附，从而维持细胞极性、

组织结构的完整性和上皮细胞层的连续性。

CDH1在多种生物学过程中发挥关键作用，包括胚胎发育、组织形成、伤口愈合以及肿瘤抑制等。它通过与相邻细胞的CDH1分子相互作用，形成稳定的细胞连接，进而参与细胞信号传导和细胞骨架的组织。



## 产品参数：

检测范围	0.156ng/mL~10ng/mL
敏感性	15pg/mL
特异性	系统和其它因子无交叉反应
样本类型	小鼠血清、血浆、体液、组织匀浆或细胞培养上清

## 使用方法

### （一）样品制备

1.根据样品种类选择相应的处理方法：

（1）细胞上清：将细胞培养上清液100~500×g离心5min，去除悬浮物后即可。

（2）血清样品：将全血在室温下静置0.5~2h，待其自然凝固并析出血清后，离心取黄色上清即可(4℃，1,000~2,000×g，10min)，注意请勿吸取沉淀，制备好的血清需置于冰上待用，请勿在其中添加任何防腐剂或抗凝剂；

（3）血浆样品：使用EDTA对全血进行抗凝处理后，混合均匀置于冰上，离心取黄色上清即可(4℃，1,000~2,000×g，10min)，注意请勿吸取沉淀，制备好的血浆需置于冰上待用；

（4）组织匀浆/体液：离心去除沉淀即可。

**注意：**

- ①若待测样品无法及时检测，样品制备完成后，请分装冻存于-20℃，避免反复冻融；
- ②请保证待测样品清澈透明，检测前如发现样品中有悬浮物，需通过离心去除；
- ③为了保证检测结果准确，请勿使用溶血、黄疸、高血脂或污染的样品。

### 2.稀释样本

查阅相关文献，预估样品中待测因子的含量，从而确定适当的稀释倍数，使稀释后样品中待测因子的浓度处于ELISA试剂盒的最佳检测范围。根据待测因子含量的不同，分别采取不同的稀释方案：

- （1）待测因子含量在100~1,000ng/mL范围内，一般按1:100稀释，即向297 μL样品稀释液中加入3 μL样品；
- （2）待测因子含量在10~100ng/mL范围内，一般按1:10稀释，即向225 μL样品稀释液中加入25 μL样品；
- （3）待测因子含量在0.156~10ng/mL范围内，一般按1:2稀释，即向100 μL样品稀释液中加入100 μL样品；
- （4）待测因子含量≤0.156ng/mL，样品一般无需稀释。

以上方案仅供参考，实验中请详细记录样品的稀释方法。

### （二）检测准备工作

3.试剂盒自4℃冰箱取出后，请置于室温平衡20min；如从-20℃取出，各组分需彻底融化后再平衡20min；检测完成后，剩余试剂请及时置于4℃或-20℃保存。

4.将浓缩洗涤液(25×)用双蒸水或去离子水稀释成1×洗涤液。



5.重组小鼠CDH1标准品的稀释和使用(在使用前2h内准备, 室温操作, 请严格控制在25~28℃)

(1) 配制20ng/mL标准品: 取1mL样品稀释液加入标准品管内, 盖好后静置15min以上, 然后反复颠倒/搓动以助溶解;

(2) 配制10ng/mL标准品: 取500μL20ng/mL的标准品加入有500μL样品稀释液的EP管中, 混匀, 做上标记;

(3) 按下表将10ng/mL标准品用样品稀释液进行倍比梯度稀释。(最高浓度为10ng/mL, 将标准品稀释液作为浓度0pg/mL。)

管号	稀释液用量(μL)	复溶后标准品用量(μL)	标准品的最终浓度(ng/mL)
A	0	1000	10
B	300	300(从A管取出)	5
C	300	300(从B管取出)	2.5
D	300	300(从C管取出)	1.25
E	300	300(从D管取出)	0.625
F	300	300(从E管取出)	0.312
G	300	300(从F管取出)	0.156
H	300	0	0

**注意:** 标准品复溶加样后, 剩余部分请丢弃。

6.准备生物素标记小鼠CDH1抗体工作液

(1) 按每孔需添加100μL抗体工作液, 计算其总用量(为弥补操作中的损耗, 需多配制100~200μL);

(2) 按1μL生物素标记小鼠CDH1抗体添加99μL抗体稀释液的比例配制工作液, 轻轻混匀。

7.准备酶复合物工作液(需在使用前1h内准备)

(1) 按每孔需添加100μL酶复合物工作液, 计算其总用量(为弥补操作中的损耗, 需多配制100~200μL);

(2) 按1μL酶复合物添加99μL酶复合物稀释液的比例配制工作液, 轻轻混匀。

### (三) 检测流程

8.通过计算确定一次实验所需的板条数, 取出所需板条放置于框架内, 多余的板条请放回铝箔袋密封, 保存于4℃或-20℃。

**注意:**

①标准品和样品建议做双复孔检测;

②每次实验均需绘制标准曲线。

9.将用样品稀释液稀释后的样品和不同浓度标准品(100μL/孔)分别加入相应孔中, 用封板胶纸封住反应孔, 37℃孵育90min。

**注意:**

①请查阅相关文献确定样品中待检测蛋白的大致浓度, 若其大于本试剂盒标准曲线的最大标准品浓度, 请将样品适当稀释后再进行检测;

②整个加样过程不宜超过10min, 否则可能会影响检测结果。

10.甩去酶标板内液体, 无需洗板, 将板倒扣在吸水纸上拍干。



11.加入稀释后的生物素标记小鼠CDH1抗体工作液(100 $\mu$ L/孔),用封板胶纸封住反应孔,37 $^{\circ}$ C孵育60min。

12.洗板5次,每孔1 $\times$ 洗涤液用量为300 $\mu$ L,注入与吸出间隔15~30s,洗完后将板倒扣在吸水纸上拍干。

**注意:** 洗涤过程至关重要,洗涤不充分会导致结果产生较大误差。

13.加入稀释后的酶复合物(100 $\mu$ L/孔),用封板胶纸封住反应孔,37 $^{\circ}$ C避光孵育30min。

14.洗板5次,方法同步骤12;

15.加入显色剂TMB(100 $\mu$ L/孔),用封板胶纸封住反应孔,避光37 $^{\circ}$ C反应10~25min。注意:

①在保存和使用时,请勿将TMB接触氧化剂和金属;

②因实验室条件差异,最佳显色时间会有所不同,反应充分时肉眼可见标准品的前3~4孔有明显的梯度蓝色。

16.加入终止液(100 $\mu$ L/孔),混匀后即刻使用酶标仪测量OD450,同时设定540nm或570nm作为校正波长,即可计算得到校正吸光度值(OD450-OD540或OD450-OD570);

**注意:** 读取OD值建议在10min内完成。

#### (四) 数据分析

17.绘制标准曲线。以标准品浓度作横坐标,OD值作纵坐标,利用计算机软件作四参数逻辑(4-PL)曲线拟合创建标准曲线,通过样品的OD值即可在标准曲线上计算出其相应浓度。

**注意:**

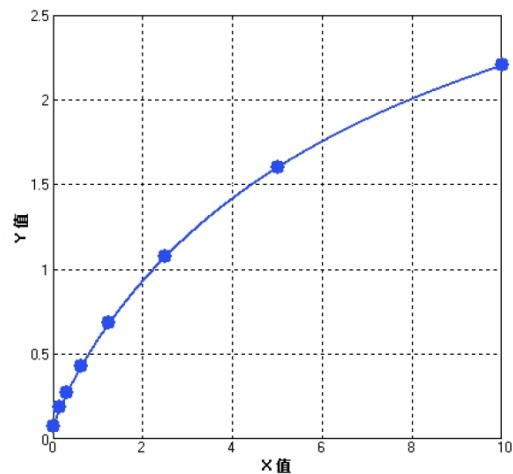
①复孔OD值在20%的差异范围内结果才有效,复孔OD值取平均后可作为测量值;

②若样品OD值高于标准曲线上限,应适当稀释后重测,计算浓度时应乘以稀释倍数。

#### 标准曲线范例

小鼠CDH1参考标准曲线

标准品浓度	O.D.
0 ng/mL	0.076
0.156 ng/mL	0.185
0.312 ng/mL	0.274
0.625 ng/mL	0.429
1.25 ng/mL	0.687
2.5 ng/mL	1.079
5 ng/mL	1.604
10 ng/mL	2.202



**注意:** 本图仅供参考,应以同次试验标准品所绘标准曲线计算样品含量。

#### 保存条件



2~8℃保存，自生产之日起6个月有效；长期储存请置于-20℃，自生产之日起12个月有效。

## 注意事项

1. 浓缩洗涤液低温情况下可能会出现结晶，请水浴加热使结晶完全溶解后再配制工作液；
2. 严禁混用不同批号试剂盒的组分；
3. 加样过程请避免产生气泡，实验操作过程中一定要保证试剂充分混匀，否则会使结果产生较大误差；
4. 说明书中提到的室温条件，请严格控制在25~28℃；
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作；
6. 本产品仅限科研使用。

J240101

