# Mouse/Rat P-Cadherin/Cadherin-3/CDH3 ELISA Instructions

CAT：EMY0084

## 组分

| | CAT | Volume |
|---|---|---|
| ❶ CP (Coated Plate) | EMY0084CP | 96 well |
| ❷ S (Standard) | EMY0084S1 | 2 vial |
| ❸ SD (Sample Diluent) | ESD01 | 15 ml/bottle |
| ❹ DA-H (Detect Antibody-HRP 100×) | EMY0084DA-H | 50 µl/vial |
| ❺ DD (Detect Antibody Diluent) | EDD02 | 6 ml/bottle |
| ❻ AB (Assay Buffer 1×) | EAB01 | 12 ml/bottle |
| ❼ TS (TMB Substrate) | ETS01 | 12 ml/bottle |
| ❽ SS (Stop Solution) | ESS01 | 12 ml/bottle |
| ❾ WB (Wash Buffer 10×) | EWB01 | 50 ml/bottle |
| ❿ SF (Sealer Film) | ESF01 | 6 pieces |

■ 注: 试剂盒打开后，各组分可稳定 30 天。

## 试剂准备

### ■ 1×洗液制备

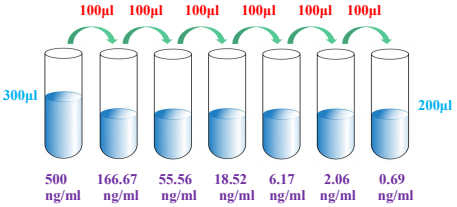
吸取 10×浓缩洗液 50 ml 至 500 ml 量筒，加蒸馏水或去离子水至 500 ml，轻轻混匀。转移至干净瓶内。2-25℃贮存。

### ■ 标准曲线的制作:

按 S1 瓶标签标注体积加入蒸馏水制备小鼠/大鼠 P-Cadherin/Cadherin-3/CDH3 高标准（500 ng/ml）。轻旋混合以确保完全溶解。

高标准静置 10-30 min，稀释前充分混合。

小鼠/大鼠 P-Cadherin/Cadherin-3/CDH3 标准 EMY0084S1 作为高标准（500 ng/ml）。每个稀释试管中加入 200 µl **样本稀释液（SD）**，使用高标准制备 1：2 稀释系列。在进行下一步转移之前彻底混合每个试管。**样本稀释液（SD）**用作零标准（0 ng/ml）。




### ■ 1×检测抗体制备

稀释前充分混合。

根据标准品和样品的需要，用 DD（检测抗体稀释液）在干净的塑料管中对浓缩的检测抗体溶液进行 1:100 稀释。

## 检测步骤

**检测之前请将所有的试剂、样本恢复至室温**

❶ 准备好所有需要的试剂及工作浓度标准品。

❷ 将不需要的**板条**拆卸下来，放回铝箔袋，重新封好封口。

❸ 每孔加入 50 µl **检测缓冲液（AB）**。

❹ 加入 10 µl 的**标准品（S）**、**样本**。保证连续加样，请不要间断。加样过程在 15 分钟内完成。

❺ 每孔加入 50 µl **HRP 标记的检测抗体（DA-H）**。

❻ 使用**封板膜（SF）**封板。500 转/分钟振荡，室温孵育 30 分钟。

❼ 弃掉孔内液体，每孔加入 300 µl **洗液**洗板，洗涤 4 次。每次洗板，在吸水纸上拍干。为获得理想的实验性能，必须彻底移除残留液体。

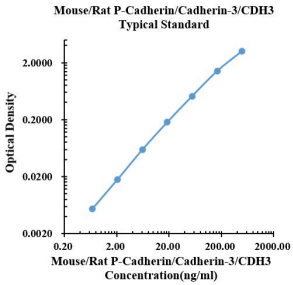
❽ 每孔加入 100 µl **显色底物 TMB（TS）**，室温孵育 5-30 分钟。

❾ 每孔加入 100 µl **终止液（SS）**。

❿ 在 30 分钟之内，**酶标板** 450 nm 波长测定 OD 值，校正波长设定为 570 nm 或者 630 nm。

## 典型数据

每一次的检测，每一块微孔板都必须设立标准曲线。下方标准曲线仅作为示例展示。




| ng/ml | O.D. | | Average | Corrected |
|---|---|---|---|---|
| 0.00 | 0.0066 | 0.0066 | 0.0066 | |
| 0.69 | 0.0116 | 0.0125 | 0.0121 | 0.0055 |
| 2.06 | 0.0239 | 0.0247 | 0.0243 | 0.0177 |
| 6.17 | 0.0655 | 0.0662 | 0.0659 | 0.0593 |
| 18.52 | 0.1882 | 0.1868 | 0.1875 | 0.1809 |
| 55.56 | 0.5271 | 0.5229 | 0.5250 | 0.5184 |
| 166.67 | 1.4330 | 1.4280 | 1.4305 | 1.4239 |
| 500.00 | 3.2280 | 3.1870 | 3.2075 | 3.2009 |

## 灵敏度

小鼠/大鼠 P-Cadherin/Cadherin-3/CDH3 的最低可检测浓度为 0.09 ng/ml(10 µl 上样量)。

10 个零浓度空白值 OD 的平均值加上两个 SD，计算最低可检测浓度。

## 精密度

■ 酶标板内精密度：3 个已知浓度的样本酶标板内重复测定 22 次，评估酶标板内的精密度。

■ 酶标板间精密度：3 个已知浓度的样本酶标板间重复检测 6 次，评估酶标板间的精密度。

| | 酶标板内精密度 | | | 酶标板间精密度 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 样本数量 | S1 | S2 | S3 | S1 | S2 | S3 |
| | 22 | 22 | 22 | 6 | 6 | 6 |
| 平均值（ng/ml） | 7.4 | 39.2 | 130.1 | 8.1 | 41.9 | 128.7 |
| 标准差 | 0.4 | 2.5 | 7.5 | 0.5 | 2.2 | 6.1 |
| 变异系数（%） | 5.7 | 6.3 | 5.7 | 6.8 | 5.2 | 4.8 |

## 回收率

健康小鼠/大鼠血清加入 3 个不同浓度水平的小鼠/大鼠 P-Cadherin/Cadherin-3/CDH3，未加入小鼠/大鼠 P-Cadherin/Cadherin-3/CDH3 的血清作为本底，计算回收率。

回收率的范围从 95%至 119%，平均回收率为 112%。

## 稀释线性

5 份健康小鼠/大鼠血清加入高浓度的小鼠/大鼠 P-Cadherin/Cadherin-3/CDH3，并在标准曲线的动力学范围内进行系列稀释，评估检测的线性。

线性范围为 97%至 116%，总体平均回收率为 113%。

## 样本值

应用本试剂盒，检测 30 份健康小鼠和大鼠的血清样本。

| 样本类型 | 检测样本数量 | 浓度范围 (ng/ml) | 可测百分率 (%) | 可测样本平均浓度 (ng/ml) |
|---|---|---|---|---|
| 小鼠血清 | 30 | 2.02-16.27 | 100 | 10.59 |
| 大鼠血清 | 30 | 3.60-58.20 | 100 | 28.97 |

n.d. =测不到浓度值。样本的浓度值低于灵敏度被认为测不到浓度值。