



布鲁氏菌荧光偏振抗体检测试剂盒 上机操作规程（SOP）

一、目的

为规范布鲁氏菌荧光偏振抗体检测试剂盒上机操作，特制定本操作规程。

二、适用范围

本操作规程适用于中联瑞（北京）生物科技有限责任公司布鲁氏菌荧光偏振抗体检测试剂盒,应用安捷伦系列荧光偏振仪及配套 Gen5 软件（配备自动加样器）的上机操作。

三、主要操作规程

3.1 实验前准备

3.1.1 试剂准备

试验前，将所需试剂盒及待检血清恢复至室温（20~25℃），混匀 5× 样品稀释液（若有结晶可在 37℃ 水浴中加热 5~10 分钟充分溶解）。

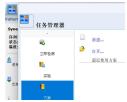
3.1.2 配制 5× 样品稀释液

5× 样品稀释液用去离子水作 1 : 5 稀释（1ml 样本稀释液加 4ml 蒸馏水），充分混匀。

3.2 开机及软件调试

3.2.1 开机

接通电源打开电脑及荧光偏振仪电源开关（偏振仪的底端左下角，左边为开机电源开关，右侧为仪器托板架直接键），仪器运行 2-3min。

打开 Gen5 软件，在任务管理器（）中选择打开现有方案，然后选择“.prt”试验运行方案文件，或直接双击“.prt 文件”打开。

3.2.2 灌注

灌注前，将加液器针 1（加样器右侧针）置于配好样品稀释液的离心管或三角瓶内，离心管可用固定架固定好；同样将加液器针 2（加样器左侧针）置于棕色抗原瓶液面内。点击 Gen5 软件界面最上栏的“系统”，选择“仪器控件”——“H1”仪器型号，在弹出的界面中点击“灌注”，“加液器”选择“1”，“体积”修改为 1100uL，将白色废液板放在托板架上，点击“灌注”，加液器 1 灌注完后可检查废液板是否打出液体以验证管线 1 样品稀释液灌注满；废液板换置一个方向后，同上操作，再进行加液器 2 灌注，灌注完后检查废液板是否打出液

体以验证管线 2 的标记抗原灌注满。加样器灌注结束后，关闭灌注界面。

3.2.3 板布局

点击 Gen5 软件界面图片栏的“板布局” (), 在弹出的界面点击“清空”两个字，将鼠标拖到 96 孔布局图的最左上角空格处点击，清空所有原来的布局，根据实际检测布局重新布局，点击“分析控件”内的 NC，鼠标移到 96 孔布局图内设置阴性对照位置（设置 3 孔阴性），点击 PC 同上操作设置阳性对照的位置；点击“样品”内的 SPL1，鼠标移到 96 孔布局图内设置待检样品位置。阴阳对照和样品布局完成后，点击“确定”完成布局设置。

3.2.4 程序确定

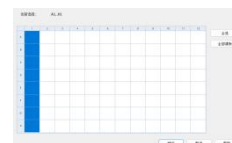
完成板布局后，点击 Gen5 软件界面图片栏的“程序” ( 在弹出的界面分别双击“加注 180uL”、“检测”、“加注 10uL”、“检测”四个步骤，如图：

在新弹出的界面中分别点击后边的图框（例如图中 A1..G1 图框



), 选中加注和检测的区域与 3.2.3 设置的板布局区域一致，如图：

描述	注释
加注 (V) 485/20.528/20 (Parallel) 485/20.528/20 (Perpendicular) A1..G1	
检测 (T) 485/20.528/20 (Parallel) 485/20.528/20 (Perpendicular) A1..G1	
加注 (V) 485/20.528/20 (Parallel) 485/20.528/20 (Perpendicular) A1..G1	
检测 (T) 485/20.528/20 (Parallel) 485/20.528/20 (Perpendicular) A1..G1	



设定好后，点击确定。本步骤目的是使程序内加样器加液与检测区域与板布局实际加样区域一致。

3.3 检测

布局和程序设定好后，将 96 孔黑色避光反应板依照布局，加好 3 个阴性对照、1 个阳性对照和待检样品，20uL/孔；将反应板放置在托板架上（注意 A 端对应托板架“A”放置）。点击 Gen5 软件界面图片栏的“检测” (), 根据提示框点击确定（是否更改新的布局、程序点击“是”，清空托板架放置待检板，确定检测），进行检测。

3.4 编辑样品信息编号（样品 ID）

点击 Gen5 软件界面最上栏的“板”，选择点击“样品 ID”，在弹出的界面输入样品编号信息，勾选“自动编号”，鼠标或下箭头自动逐增编号。

3.5 数据处理

当检测出现阴阳对照 FP 值不符合说明书成立条件（三阴 FP 值 < 170，阳对 FP 值 ≥ 200）时，可点击 Gen5 软件界面图片栏的“数据处理” (), 在弹出的界面中点击第二行的“转



换”，调节公式里基因参数的大小（ $(D52-D51) \times 0.95$ ），例如图中调节 0.95 将其调大或调小，对应阴阳对照的 FP 值变小或变大，以达到阴阳对照 FP 值打到成立的数值范围，在参与样品值的计算。注意：本调节只是使阴阳对照 FP 值符合成立的取值范围，对最终结果 ΔmP 值几乎没有影响，也就是不影响最终结果的阴阳判定。

3.6 报告模板的编辑



点击 Gen5 软件界面图片栏的“报告/导出”（），在弹出的界面点击“常规报告”，点“编辑”，双击“矩阵”对“数据”进行编辑增减，点击“选择”对板的“自定义区域”进行编辑选择，可以只选择打印布局的区域数列；选择“页眉（第一页）”可以对页眉信息进行增减编辑。报告模板编辑调好后将保存在本试验方案（.prt）内，下次应用本方案可不用重复调整报告模板。

3.7 报告的导出或打印



试验结束后，对报告模板编辑好后，点击 Gen5 软件界面图片栏的“打印”（），选择 PDF 导出报告，同时可选择点击 Gen5 软件界面图最上边一栏的“文件”，点击另存为把试验数据保存为“.xpt”文件格式，可随时用 Gen5 软件打开。

3.8 实验结束后，加液器管路 1/2 内液体回收

报告打印导出、试验结束后，对加样器 1、2 的管路内液体进行回收。点击 Gen5 软件界面最上栏的“系统”，选择点击“仪器控件”的 H1 仪器型号，在弹出的界面点击“灌注”、选择“加样器 1”，体积改为 2000-3000uL，点击“回流”，使管路 1 内的液体充分回流回收，回流时把废液板放置在托板架上。管路 1 回流结束后，再选择“加样器 2”，重复操作对管路 2 内液体充分回流回收。回流结束后，依次收好稀释液瓶和抗原瓶。

3.9 加样器管路 1/2 清洗

回流结束后，按照 3.2.2 灌注步骤，依次对管路 1、2 进行清洗。将废液板放置在托板架上，准备 1 瓶蒸馏水，先将加样器 1 针头插入液面下，体积修改为 2000-3000uL，点击“灌注”，使蒸馏水充分灌注清洗管路 1，加样器泵灌注完后，再将加样器 1 针头从蒸馏水液面内取出，继续点击“灌注”，使管路 1 灌注空气充分排空管路 1 内的蒸馏水，吸水纸擦净加样器针头 1，加样器 1 清洗完毕。再进行加样器 2 的清洗，把加样器 2 针头插入蒸馏水液面下，重复上述步骤，完成管路 2 的清洗。



3.10 仪器关机

加样器 1、2 清洗结束后，取出废液板清洗后收好。按偏振仪左下角按钮（电源开关右侧按钮），使托板架收回复位到仪器内；关闭仪器电源开关仪器关机，加样器针头复位到针头保护瓶内、固定在绑定架上，罩好加样器外罩。电脑 Gen5 软件关闭退出，电脑关机。

【注意事项】

- (1) 严格按照试剂盒说明书操作，不同批号组分不得混用。
- (2) 所有试剂一律于 2~8℃ 保存，使用前应在室温平衡 15~30 分钟后方可使用。
- (3) 加样时应尽量避免起泡及液体溅出，避免样本间相互污染。

(4) 用法与判定中使用的荧光偏振仪型号为 BioTek-SynergyH1，使用其他型号荧光偏振仪时可参考上述操作步骤进行相应设置。