

## 小鼠甲状腺素（T4） ELISA Kit

规 格： 96T/48T

### 预期用途：

仅供科研使用，定量检测血清、血浆、细胞培养上清液、组织中甲状腺素（T4）的浓度。

### 检测原理：

试剂盒采用酶联免疫分析方法。采用生物素标记T4，纯化的抗T4抗体包被微孔板，在竞争抑制反应中，一定量的固相抗体与生物素标记T4及非标记抗原（校准品或标本）进行抑制竞争反应，抗体与生物素标记的T4结合量受非标记抗原量所抑制，非标记抗原量多，抗体与生物素标记的T4结合就少，反之结合就多；反应平衡后，形成固相抗体-生物素化T4，再加入酶标记的亲和素，形成固相抗体-生物素化T4-酶标-亲合素复合物。经加底物显色后，用酶标仪在450nm波长下测定吸光度（OD值）。随着T4浓度的升高，OD值逐渐下降呈良好的线性关系。本试剂盒具有灵敏度高、特异性强、重复性好、操作简单、快速等特点，对血清中T4的减少或升高有可靠的检出性能。

### 试剂盒组成：

组分	数量	主要成分
校准品	0.5ml/管*6管	抗原配制的6个浓度标准品
包被微孔板	96T/48T	预包被固相抗体
HRP标记亲和素	6mL	HRP标记的亲和素
生物素化抗原	6mL	检测抗原
底物液A	6mL	过氧化脲工作液
底物液B	6mL	TMB工作液
终止液	6mL	2mol/L稀释液
样本稀释液	6mL	PBS
20×浓缩洗涤液	30mL	含0.15%Tween20的PBS
说明书	1份	-
自封袋	1个	-
不干胶	2片	-

校准品浓度依次为：64、32、16、8、4、0ng/mL。

本品必须按照具有潜在的感染性进行处理，处理过程应当遵循通用的安全措施。

### 需要但未提供的材料及耗材：

1. 酶标仪
2. 精密移液器及一次性吸头
3. 蒸馏水
4. 洗瓶或者自动洗板机
5. 37°C水浴锅或恒温箱
6. 500ml量筒
7. 无粉一次性乳胶手套



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

**储存条件及有效期:**

1. 2-8°C保存，切勿冷冻，有效期6个月。
2. 开封使用后，包被微孔板放入带有干燥剂的自封袋中，密闭自封袋，并将全部试剂放回2-8°C冰箱。
3. 开封后，按照建议的条件保存，校准品、包被微孔板和HRP标记亲和素，有效期为14天，其他成分在标签标明的有效期内是稳定的。

**适用仪器:**

半自动的酶标仪，如Thermo MK3，或者国产酶标仪。

**样本要求:****样本类型和采集**

以下只是列出样品采集的一般指南。所有样本采集过程中，不得使用叠氮钠做为防腐剂。

1. 细胞培养上清：4000rpm条件下离心20min，去除细胞颗粒和聚合物，上清液保存在-20°C以下，避免反复冻融。
2. 血清：使用不含热原和内毒素的试管，操作过程中避免任何细胞刺激，4000rpm条件下离心20min，小心地分离出血清，保存在-20°C以下，避免反复冻融。
3. 血浆：肝素，EDTA，或柠檬酸钠作为抗凝剂。在4000rpm条件下，离心20分钟取上清，血浆保存在-20°C以下，避免反复冻融。
4. 组织：用预冷的PBS (0.01M,pH=7.4)冲洗组织，去除残留血液，称重后将组织剪碎。将剪碎的组织与对应体积的PBS(一般按1: 9的重量体积比，比如1g的组织样品对应9mL的PBS)，具体体积可根据实验需要适当调整，并做好记录。推荐在PBS中加入蛋白酶抑制剂加入玻璃匀浆器中，在冰上充分研磨。为了进一步裂解组织细胞，可以对匀浆液进行超声破碎或反复冻融。最后将匀浆液5000×g离心5-10分钟，取上清检测。

**样本保存和稳定性**

样本在2-8°C条件下，可以储存72h，或者在-20°C储存6个月。样本收集后，不是一次检测完，请按一次用量分装冻存，避免反复冻融，使用时在室温下解冻，确保样品均匀充分解冻。

**检验方法:****试剂准备**

1. 使用前，所有的组分都要至少复温30min，确保充分复温到室温。
2. 浓缩洗涤液：从冰箱取出的浓缩洗涤液，会有结晶产生，这属于正常现象，水浴加热使结晶完全溶解。浓缩洗涤液与蒸馏水，按1:20稀释，即1份的浓缩洗涤液，添加19份的蒸馏水。

**操作程序**

1. 将各种试剂移至室温平衡两小时，取浓缩洗涤液，根据当批检测数量，用蒸馏水1: 20稀释，混匀后备用。
2. 将预包被板从密封袋中取出，设一个空白对照孔，不加任何液体；每个校准品设2孔，每孔加入对应校准品50μl；其余每个检测孔直接加待测血清或质控品50μl。
3. 除空白孔外所有孔加入生物素化抗原50μl，混匀，贴上封板膜，置37°C温育60分钟。
4. 手工洗板：弃去孔内液体，洗涤液注满各孔，静置10秒甩干，重复3次后拍干。洗板机洗板：选择洗涤3次程序洗板后拍干。
5. 每孔加入酶标亲合素50μl（空白对照孔除外），混匀，贴上封板膜，置37°C温育30分钟。
6. 手工洗板：弃去孔内液体，洗涤液注满各孔，静置10秒甩干，重复3次后拍干。洗板机洗板：选择洗涤3次程序洗板后拍干。
7. 每孔加显色剂A 50μl，显色剂B 50μl，振荡混匀后，置37°C避光显色15分钟，每孔加终止液50μl。
8. 用酶标仪读数，取波长450nm，先用空白对照孔调零点，然后测定各孔光密度值（OD值）。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

### 实验结果计算：

检测完成后，以标准品浓度做为纵坐标，对应的吸光度（OD值）作为横坐标，利用计算机软件，采用四参数Logistic曲线拟合（4-pl），创建标准曲线方程，通过样本的吸光度（OD值），利用方程计算样品的浓度值。

如果样品被稀释，通过上述方法测的的浓度值，要乘以稀释倍数，才是样品的最终浓度。

### 检验方法的局限性：

1. 仅供科研使用，不得用于临床诊断。
2. 在试剂盒标示的有效期内使用，过期产品不得使用。
3. 跟其他厂家的试剂盒或者组分不能混用。
4. 使用试剂盒配套的样品稀释液。
5. 如果样本值高于最高标准品浓度值，请将样本适当稀释后，再重新测定。
6. 通过其他方法得到的检测结果，与本试剂盒测定结果不具有直接的可比性。

### 产品性能指标：

1. 外观和物理检查：试剂盒应组分齐全，内外包装均应完整，标签清晰，液体试剂无渗漏。各组分装量不少于表1中要求。
2. 线性：用四参数Logistic曲线拟合（4-pl），在2ng/mL – 64ng/mL范围内，剂量-反应曲线相关系数（r）的绝对值应不低于0.9900。
3. 精密度
  - 3.1 分析内精密度：试剂盒质控品测定结果的变异系数（CV）应不大于15.0%。
  - 3.2 批间精密度：在三个不同批次产品之间，质控品测定结果的变异系数（CV）应不大于15.0%
4. 最低检出限：最低检测浓度小于0.1ng/mL。
5. 质控品测定值：每次检测结果均应在允许范围内。

### 注意事项：

#### 生物安全

1. 检测必须符合实验室管理规范的规定，严格防止交叉污染，所有样品、洗弃液和各种废弃物都应按照传染物进行处置。
2. 试剂盒的液体组分中，含有proclin-300防腐剂，可能引起皮肤过敏反应，避免吸入烟雾与皮肤接触。
3. 底物液对皮肤、眼睛和上呼吸道有刺激作用，避免吸入烟雾。戴上防护手套，实验完成后彻底洗手。

#### 技术提示

1. 混合蛋白溶液时，避免起泡。
2. 加校准品与样本时，每个校准品浓度和样本都要更换移液枪头，公共组分应该悬臂加样，免交叉污染。
3. 合适的温育时间，和充分的洗涤步骤，是保证实验结果准确性的必要条件。
4. 底物溶液为无色液体，保存过程中变为蓝色，代表底物溶液已经失效，不得使用。
5. 终止液加样顺序与底物溶液加样顺序一致，加入终止液后，蓝色底物产物，会瞬间变为黄色。
6. 实验中，用剩的板条，应立即放回自封袋中，密封（低温干燥）保存。
7. 所有液体组分，使用前充分摇匀，严格按照说明书标明的时间、加样量及加样顺序进行温育操作。

#### 废物处理

所有使用或未使用的试剂，所有污染性的一次性材料，应当遵循传染性或潜在传染性产品的处理程序，每个实验室都有责任根据其实验的类型和危险性级别，进行废物和污物的处理，同时要严格依照有关规定对待所有的废物和污物。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com