

# 人 I 型胶原 $\alpha 1$ 前体 (Pro-Collagen I alpha 1 ) ELISA Kit

**Catalog Number: bsk11046**

本试剂盒用于定量检测人血清、血浆或细胞培养上清液等样本中 I 型胶原  $\alpha 1$  前体 (Pro-Collagen I alpha 1 ) 含量。**使用前请仔细阅读说明书并检查试剂组分**，如有任何疑问请与北京博奥森生物技术有限公司联系，公司将为您提供强有力的技术支持。

**仅供研究，不用于临床诊断。**

## 目录

|                   |   |
|-------------------|---|
| 检测原理.....         | 3 |
| 试剂盒组成.....        | 3 |
| 其它实验材料.....       | 3 |
| 注意事项.....         | 4 |
| 样本收集、处理及保存方法..... | 4 |
| 试剂准备.....         | 5 |
| 操作步骤.....         | 5 |
| 结果判断.....         | 6 |
| 试剂盒性能.....        | 7 |
| 检测范围.....         | 7 |
| 灵敏度.....          | 7 |

### 检测原理:

本试剂盒采用 ELISA 双抗体夹心法原理。用纯化的 I 型胶原  $\alpha 1$  前体 (Pro-Collagen I  $\alpha 1$ ) 抗体包被微孔板, 向已包被的板微孔中依次加入标准品及待测样本, 待其与包被抗体充分结合后, 再与生物素化的 Pro-Collagen I  $\alpha 1$  抗体结合, 其后加入辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的链霉亲和素, 生物素与链霉亲和素形成高强度的非共价结合, 经过彻底洗涤后加入底物 TMB 显色。TMB 在 HRP 酶的催化作用下转化成蓝色, 并在酸的作用下最终转化成黄色。颜色的深浅和样本中的 Pro-Collagen I  $\alpha 1$  含量呈正相关。用酶标仪在 450nm 波长下测定吸光值 (OD 值), 通过绘制标准曲线计算样本中 Pro-Collagen I  $\alpha 1$  浓度。

### 试剂盒组成:

| 试剂盒组成           | 规格 (96T)       | 保存条件    |
|-----------------|----------------|---------|
| 抗体包被板条          | 8×12           | 2-8℃ 保存 |
| 标准品             | 2 支            | 2-8℃ 保存 |
| S1 标准品/样本稀释液    | 16 ml×1 瓶      | 2-8℃ 保存 |
| 浓缩生物素化抗体 (100×) | 60 $\mu$ l×2 瓶 | 2-8℃ 保存 |
| S2 生物素化抗体稀释液    | 16ml×1 瓶       | 2-8℃ 保存 |
| 浓缩酶结合物 (100×)   | 60 $\mu$ l×2 瓶 | 2-8℃ 保存 |
| S3 酶结合物稀释液      | 16ml×1 瓶       | 2-8℃ 保存 |
| 浓缩洗涤液 (20×)     | 25ml×1 瓶       | 2-8℃ 保存 |
| 显色底物 (避光)       | 12ml×1 瓶       | 2-8℃ 保存 |
| 终止液             | 12ml×1 瓶       | 2-8℃ 保存 |
| 封板胶纸            | 4 张            |         |
| 说明书             | 1 份            |         |

### 其它实验材料 (不提供, 但可协助购买):

1. 酶标仪 (主波长 450nm, 参考波长 630nm)
2. 高精度可调移液器 (已校准) 及吸头: 0.5-10, 2-20, 20-200, 200-1000  $\mu$ l。  
一次检测样本较多时, 建议使用多通道移液器。
3. 自动洗板机或洗瓶
4. 37℃ 温箱
5. 双蒸水或去离子水

6.坐标纸

7.量筒

**注意事项:**

1.试剂盒保存在 2-8℃，已复溶但未用完的标准品，建议丢弃。不可混合使用不同来源或不同批号的试剂盒组分，请在有效期内使用本产品。

2.浓缩洗涤液低温取出可能会伴有结晶析出，稀释时可在水浴中加热助溶，不影响使用。

3.各步加样均应使用移液器，并经过校准，以免产生误差。建议一次加样时间最好控制在 5 分钟内，如样本数量较多，推荐使用排枪加样。

4.请每次测定的同时做标准曲线，最好做复孔。如样本中待测物质含量高于试剂盒检测上限（样本 OD 值大于标准品孔第一孔的 OD 值），请先用样本稀释液稀释一定的倍数（n 倍）后再测定，计算时需乘以总稀释倍数。

5. 为避免交叉污染，在加入不同浓度的标准品、不同样本、不同试剂时谨记及时更换吸头，封板胶纸只限一次性使用。

6.浓缩酶结合物及显色底物请避光保存，显色底物在添加之前，应保持无色，请勿使用已变为蓝色的显色底物。

7.严格按照说明书的操作进行，试验结果判定必须以酶标仪读数为准。

**样本收集、处理及保存方法:**

1.血清：室温血液自然凝固 30 分钟，离心 20 分钟（2000-3000 转/分）。仔细收集上清，若保存过程中出现沉淀，应再次离心，避免反复冻融。

2.血浆：根据样本的要求选择 EDTA 或柠檬酸作为抗凝剂，离心 20 分钟左右（2000-3000 转/分）。仔细收集上清，若保存过程中出现沉淀，应再次离心。

3.细胞上清液：检测分泌性的成分时，用无菌管收集。离心 20 分钟左右（2000-3000 转/分）。仔细收集上清。

4.若样本无法立即检测，请将其按最小使用量分装，-20℃—70℃保存，避免反复冻融。尽量避免使用溶血或高血脂样本。如果血清中含有大量颗粒，检测前先离心或过滤去除；室温下解冻，请勿于 37℃或更高的温度加热解冻。

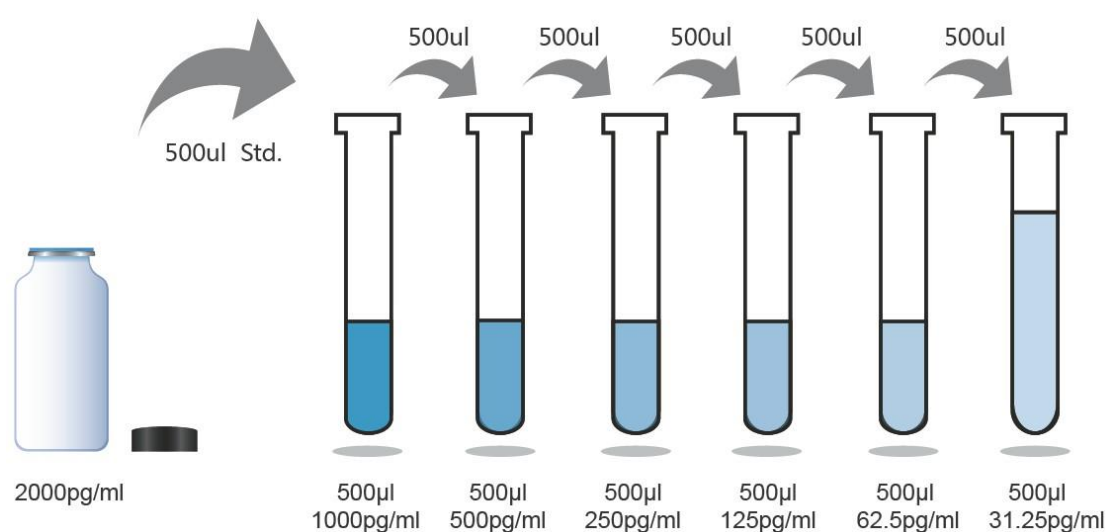
5.不能检测含 NaN<sub>3</sub> 的样本，因 NaN<sub>3</sub> 抑制辣根过氧化物酶的活性。

6.请根据实际情况，将样本做适当倍数稀释（建议根据预试验结果确定稀释倍数）。

注：正常人血清或血浆样本中 Pro-Collagen I alpha 1 含量个体差异较大，建议做 1: 10 稀释较合适。

### 试剂准备:

- 1.试剂回温：请在实验前 30min 内，将试剂盒和待测样本置于室温下回温。
- 2.洗涤液配制：根据浓缩洗涤液的浓缩倍数，用双蒸水或去离子水进行相应倍数稀释后备用。
- 3.标准品梯度稀释：取 1ml 标准品/样本稀释液（S1）至冻干标准品中，静置 15 分钟待其完全溶解后轻轻混匀(浓度为 2000pg/ml)，然后取 6 只聚丙烯试管，各管加入 500  $\mu$ l 标准品/样本稀释液（S1），按照以下浓度进行 2 倍稀释：2000、1000、500、250、125、62.5、31.25pg/ml 进行稀释。2000pg/ml 为标准曲线最高点浓度，标准品/样本稀释液（S1）作为标准曲线的零点（0pg/ml）。复溶过的标准品原液（2000pg/ml）未用完的应废弃或根据需要按照一次用量分装，并将其贮存在-20~-80℃冰箱。



- 4.生物素化抗体工作液：根据试验所需用量，用生物素化抗体稀释液（S2）将浓缩生物素化抗体（100 $\times$ ）稀释成1倍应用工作液，请于30min内使用。
5. 酶结合物工作液：根据试验所需用量，用酶结合物稀释液（S3）将浓缩酶结合物（100 $\times$ ）稀释成1倍应用工作液，请于30min内使用。

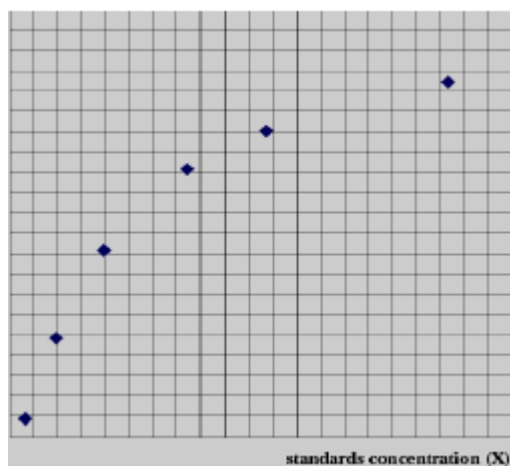
### 操作步骤:

- 1.加样：根据试验所需用量，取出相应抗体包被板条，并增加 1 孔作为空白对照孔，分别将已配制好的标准品、标准品零点（S1）及待测样本以 100  $\mu$ l/孔加入实验孔底部。
- 2.温育：用封板胶纸封板后置 37℃温育 90min（空白对照孔除外）。
- 3.洗涤：小心揭掉封板胶纸，弃去液体，甩干，每孔加满洗涤液（350  $\mu$ l），静置 30 秒后弃去，如此重复 4 次，最后于吸水纸上拍干。
- 4.加生物素化抗体：每孔加入生物素化抗体应用工作液 100  $\mu$ l(空白对照孔除外)。
- 5.温育：用封板胶纸封板后置 37℃温育 60 min (空白对照孔除外)。

- 6.洗涤：同上述洗涤过程（步骤3），洗板4次。
- 7.加酶结合物：每孔加入酶结合物应用工作液 100  $\mu$ l(空白对照孔除外)。
- 8.温育：用封板胶纸封板后置 37℃温育 30min(空白对照孔除外)。
- 9.洗涤：同上述洗涤过程（步骤3），洗板4次。
- 10.显色：每孔加入 100  $\mu$ l 显色底物，用封板胶纸封板后置 37℃显色 10-20min。
- 11.终止：每孔加终止液 100  $\mu$ l（此时蓝色立转黄色）。
12. 测定：用酶标仪 450nm 波长测定各孔的吸光度（OD 值），测定应在加终止液后 5min 以内进行。

### 结果判定：

- 1.每个标准品和样本的 OD 值减去空白孔的 OD 值，为最终数值，如果做复孔,求其平均值。
2. 使用计算机软件以吸光度 OD 值为纵坐标(Y)，相应的 Pro-Collagen I alpha 1 标准品浓度为横坐标(X)，生成相应的标准曲线，样本的 Pro-Collagen I alpha 1 含量可根据其 OD 值由标准曲线换算出相应的浓度。若样本 OD 值高于标准品曲线上限，请做适当倍数稀释，计算样本浓度时需乘以相应稀释倍数。



本图仅供参考，应以同次试验标准品所绘标准曲线为准

试剂盒性能:

批内与批间差应小于 10%

检测范围:

31.25 pg/ml -2000 pg/ml

灵敏度:

15pg/ml