

人血管内皮生长因子(VEGF)ELISA Kit

Catalog Number: bsk11024

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血管内皮生长因子(VEGF)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。用纯化的血管内皮生长因子(VEGF)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，再与辣根过氧化物酶（HRP）标记的 VEGF 抗体结合，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 VEGF 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 VEGF 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	6 瓶	2-8℃ 保存
酶结合物	6 ml×1 瓶	2-8℃ 保存
浓缩洗涤液（10×）	50ml×1 瓶	2-8℃ 保存
显色 A	6ml×1 瓶	2-8℃ 保存
显色 B（避光）	6ml×1 瓶	2-8℃ 保存
终止液	6ml×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：0.5-10,2-20,20-200,200-1000μl；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℃，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，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.显色液请避光保存。

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 NaN₃ 的样本，因 NaN₃ 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）。

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，并充分混匀。

2.洗涤液配制：根据浓缩洗液的浓缩倍数（10X），用双蒸水或去离子水进行相应倍数稀释后备用。

3.确定所需的微孔数，做好标记，建议至少双孔平行加样。

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，分别将已配制好的标准品、标准品零点及待测样本以 100 μ l/孔加入实验孔底部。

2.加酶结合物：每孔加入酶结合物 50 μ l，充分混匀。

3.温育：用封板胶纸封板后置 37℃温育 20-24h。

4.洗涤：小心揭掉封板胶纸，弃去液体，甩干，每孔加满洗涤液（350 μ l），静置 30 秒后弃去，如此重复 4-5 次，最后于吸水纸上拍干。

5.显色：按实际用量先将显色 A 和显色 B 等量混合均匀，然后每孔加入 100 μ l，用封板胶纸封板后置室温避光显色 15-20 min。

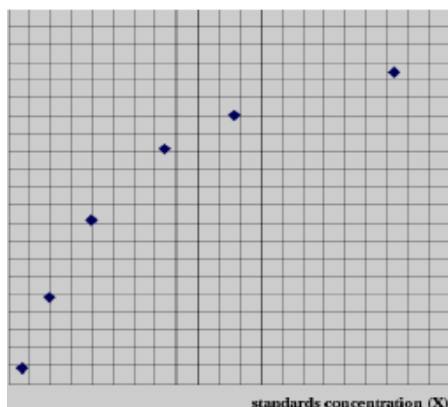
6.终止：每孔加终止液 50 μ l（此时蓝色立转黄色）。

7.测定：用酶标仪 450 nm 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 VEGF 标准品浓度为横坐标(X)，生成相应的标准曲线,样本的 VEGF 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:

30 pg/ml -2000 pg/ml

灵敏度:

15 pg/ml