牛甲状旁腺激素(PTH) ELISA Kit

Catalog Number: BSKB65540

本试剂盒用于定量检测牛血清、血浆、组织匀浆、细胞裂解液、细胞培养上清液和其他生物液体等样本中甲状旁腺激素 (PTH)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 竞争法原理。用纯化的甲状旁腺激素 (PTH)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，同时加入生物素标记的抗原，待测抗原与生物素标记抗原对特异性抗体进行竞争结合。温育后经洗涤去掉未结合物，然后加入辣根过氧化物酶（HRP）标记的亲和素，生物素与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。待测标本浓度越高，标记抗原和抗体的结合就越受到抑制，显色越浅。显色的深浅与酶量呈正相关，与待测样品含量呈负相关。

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	-20℃保存
标准品	2 瓶	-20℃保存
稀释液	45ml×1 瓶	-20℃保存
检测溶液 A	70μl×1 支	-20℃保存
检测溶液 B	120μl×1 支	-20℃保存
浓缩洗涤液（30×）	20ml×1 瓶	2-8℃保存
显色底物（避光）	9ml×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(波长 450nm)

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°C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 4℃& -20℃，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.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。

5.显色底物请避光保存。

6.开封后的酶标板要加干燥剂后密封保存于-20℃，避免潮湿。

样本收集、处理及保存方法：

1.血清：室温血液自然凝固 60-120 分钟，1000g 离心 20 分钟，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，1000g 离心 20 分钟左右，收集上清，若保存过程中出现沉淀，应再次离心。

3.细胞上清液或其它生物样本：检测分泌性的成分时，用无菌管收集，1000g 离心 20 分钟左右，收集上清。

4.组织匀浆：1）取适量组织块，于预冷 PBS 中清洗去除血液，称重后备用（组织块较大需先剪碎后再匀浆）； 2）可同时选用多种匀浆方法达到较好的破碎效果：首先将组织块移入玻璃匀浆器，加入 5-10mL 预冷 PBS 进行充分研磨，该过程需在冰上进行；得到的匀浆液可再利用超声破碎或反复冻融进一步处理； 3）将制备好的匀浆液于 5000×g 离心 5 分钟，取上清即可。

5.细胞裂解液：1）贴壁细胞需要先用胰酶消化，离心收集细胞（悬浮细胞可直接离心收集）； 2）将收集到的细胞用冷 PBS 洗 3 次； 3）物理方法裂解细胞（可先超声破碎细胞，再反复冻融）； 4）将标本于 4℃1500×g 离心 10 分钟，收集上清备用。

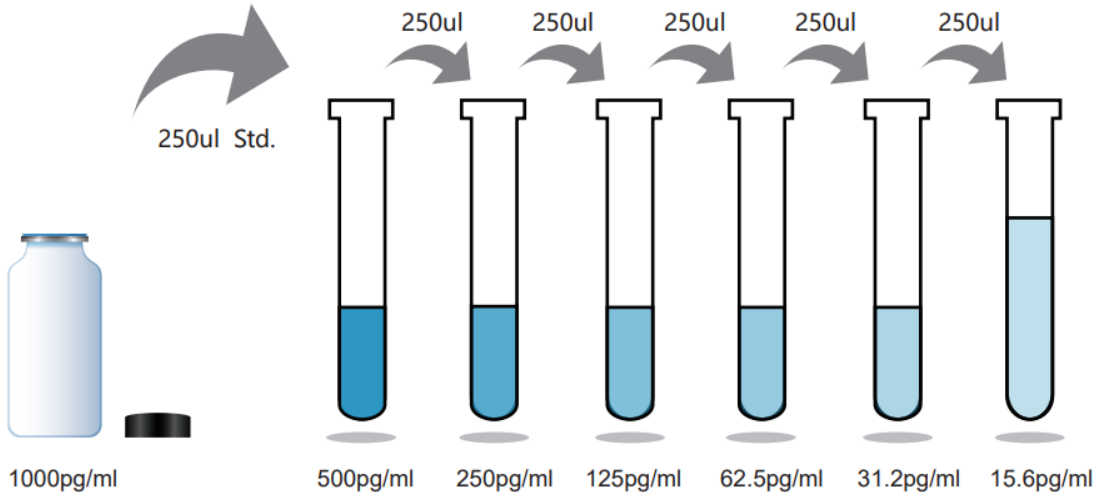
6.若样本无法立即检测，请将其按最小使用量分装，-20℃ —-70℃保存，避免反复冻融。尽量避免使用溶血或高血脂样本。

试剂准备：

1.试剂回温：请在实验前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 1000pg/ml)，然后取 6 只聚丙烯试管，各加入 250μl 稀释液，按照以下浓度进行 2 倍稀释：500、250、125、62.5、31.2、15.6pg/ml 进行稀释。1000 pg/ml 为标准曲线最高点浓度，稀释液作为标准曲线的零点（0pg/ml）。复溶过的标准品原液（1000pg/ml）未用完的应废弃。



4.检测溶液A及检测溶液B：在使用前请手甩几下或少时离心处理，以使管壁或瓶盖的液体沉积到管底。临用前分别以稀释液 1:100稀释(如：10μL检测溶液A/990μL稀释液)，充分混匀， 稀释前根据预先计算好的每次实验所需的总量配制(100μL/孔)， 实际配制时应多配制0.1-0.2mL。

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 50μl/孔加入实验孔底部。

2.然后立即每孔加检测溶液 A 工作液(临用前配制)：每孔加入检测溶液 A 工作液 50μl。

3.温育：用封板胶纸封板后置 37℃温育 60min。

4.洗涤：小心揭掉封板胶纸，弃去液体，甩干，每孔加满洗涤液（350μl），静置 1-2min 后弃去，如此重复 3 次，最后于吸水纸上拍干。

5.加检测溶液 B 工作液（临用前配制）：每孔加入检测溶液 B 工作液 100μl。

6.温育：用封板胶纸封板后置 37℃温育 60 min。

7.洗涤：同上述洗涤过程（步骤 5），洗板 5 次。

8.显色：每孔加入 90μl 显色底物溶液，用封板胶纸封板后置 37℃显色 15-25min。

9.终止：每孔加终止液 50μl（此时蓝色立转黄色）。

10.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 值应取各复孔的平均值。

2.使用计算机软件以吸光度OD值为纵坐标(Y)，相应的PTH 标准品浓度为横坐标(X)，生成相应的标准曲线，样本的PTH 含量可根据其OD值由标准曲线换算出相应的浓度。若样本进行过稀释，计算样本浓度时需乘以相应稀释倍数。

试剂盒性能：

批内与批间差应小于 10%

检测范围：

15.6 pg/ml -1000 pg/ml

灵敏度：

4.2 pg/ml