

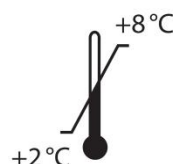
牛雌二醇(E2)ELISA 检测试剂盒（酶联免疫法）

用于体外定量检测牛 E2 含量

线性范围： 0.78-50pg/mL



RF11611



上海瑞番生物科技有限公司

地址：上海市嘉定区嘉罗公路 1661 弄 12 号 101 室 J1909

电话：+021-51172858

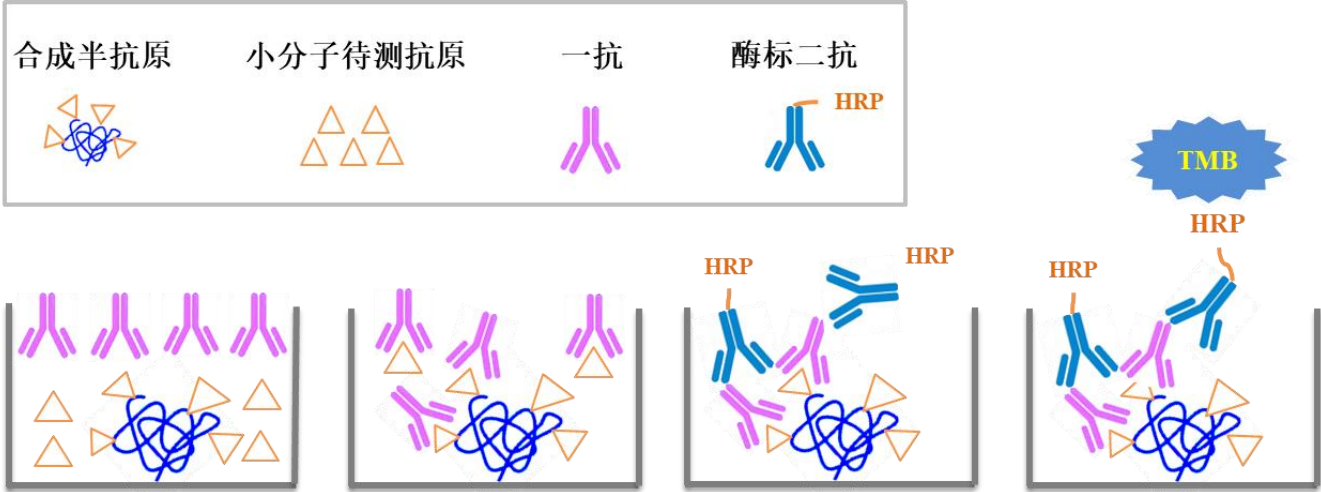
网址：www.shrfbio.com

1. 预期用途

本试剂盒设计用于定量检测血清、血浆、组织匀浆、细胞上清、细胞裂解物等样本中的待测物浓度，仅供研究使用，不得用于医学诊断。

2. 检测原理

试剂盒采用竞争法原理：将合成半抗原包被于酶标板上，同时加入样品和抗体试剂（一抗），样品中的待测物与半抗原上偶联的待测物竞争结合抗体（一抗），结合形成“半抗原-抗体”免疫复合物，清洗去除游离的免疫复合物后，加入 TMB 显色，样本中待测物浓度越高蓝色越浅，加入终止液，用酶标仪在 450 nm 处测 OD 值，颜色的深浅和样品中的待测物含量呈反比，通过绘制标准曲线计算出样本中待测物的浓度。



3. 包含的实验材料实验材料

名称 Label	组成成分 Kit Components	数量 (48T) Quantity	数量 (96T) Quantity
酶标板	预包被捕获半抗原的酶标板	8×6 条	8×12 条
校准品 (10×)	10 倍浓缩校准品 (500 pg/mL)	1 支×200μL	1 支×300μL
一抗抗体	检测抗体	1 支×300uL	2 支×300uL
酶标二抗	HRP 标记二抗抗体	1 瓶×5mL	1 瓶×10mL
通用稀释液	样品/校准品/一抗抗体通用稀释液	1 支×15mL	1 支×25mL
浓缩洗液 (20×)	20 倍浓缩洗液	1 支×15mL	1 支×25mL
显色剂	TMB、过氧化氢	1 支×6mL	1 支×10mL
终止液	稀硫酸、抗沉淀剂	1 支×3mL	1 支×6mL

如需单独采购通用型组分，请提供对应的组分名称。

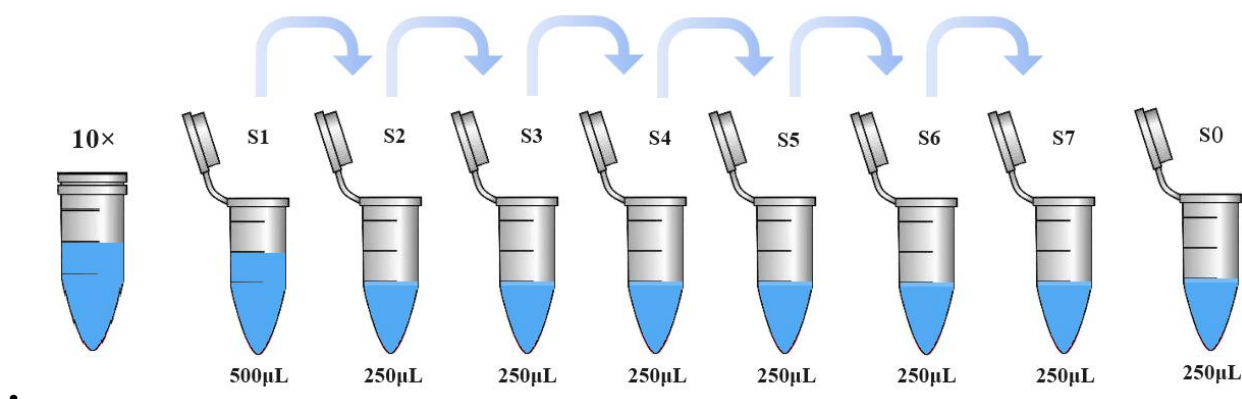
4. 需要但未包含的实验材料

- 蒸馏水或去离子水，一次性离心管、一次性手套等耗材；
- 移液器、多通道移液器及配套枪头；
- 烧杯、量筒、试剂瓶等容器具；
- 用于封贴微孔板的封板膜或其他替代材料；
- 微孔板振荡器（如有需要）、离心机、旋涡振荡器等辅助设备；

- 恒温培养箱、恒温水浴箱、酶标仪、洗板机。

5. 试剂的准备及储存

- 试剂盒各组分应储存于 **2~8°C** 保存；
- 使用前请确保试剂盒按规定的条件储存，每次实验仅准备所需实验用量的试剂，试剂盒最多可以使用 3 次；
- **校准品开封前应离心 30 秒**，确保所有校准品集中于底部；
- **1×洗液**的配制：浓缩洗液（20×）如有晶体析出，需在 37°C 下加热至晶体全部溶解后使用。用蒸馏水 1:20 稀释，例如：10mL 浓缩洗涤液加入 190mL 的蒸馏水，混合均匀。配制好的洗液可以在 2~8°C 保存 1 周；
- **一抗抗体工作液的配制**：一抗抗体（10×）使用**通用稀释液**按 1:10 倍稀释，例如：100uL 的一抗抗体加入 900uL 的**通用稀释液**。配制好的一抗抗体工作液可保存 8 小时。
- **校准品的配制**：准备 7 个试管，先将 10×校准品按需吸取一定量用**通用稀释液**稀释 10 倍配制检测线性范围上限校准品 S1。（例：50uL 的校准品（10×）+450uL 的**通用稀释液**，制备得到 500μL 的 S1 浓度校准品）。随后在 6 个离心管中分别加入 250μL 的**通用稀释液**，在这 6 个试管（S2~S7）中将 S1 校准品依次倍比稀释 6 个梯度至 S7，共配制 7 个浓度的校准品，依次为：S1、S2、S3、S4、S5、S6、S7，如下图所示，**通用稀释液**作为零浓度校准品 S0。



6. 样品采集、预处理及储存

下面列出的样品收集和储存条件旨在作为一般性指导，不同类型样品的储存、使用稳定性尚未完全评估。

- **血清**：使用血清采集管采集全血，室温静置待血细胞凝集后取的血清，或直接在 1000×g 下离心 15 分钟取得血清。操作应柔和，避免溶血发生。获取的血清应及时进行检测，如不能及时进行检测，应等分为多份，储存在 -20°C 及以下温度条件，储存时间不超过 6 个月，冷冻储存血清样品冻融不超过 2 次。血清样品建议 2 倍以上稀释，例如：50μL 样品+50μL 的 1×通用稀释液，稀释后的血清样本可在 2~8°C 储存不超过 8 小时。建议选取 1~2 份样本进行预实验确定最佳稀释度。
- **血浆**：使用 EDTA 或肝素采血管收集血浆。全血采集后以 1000×g 离心 15 分钟取得血浆。操作应柔和，避免溶血发生。获取的血浆应及时进行检测，如不能及时进行检测，应等分为多份，储存在 -20°C 及以下温度条件，储存时间不超过 6 个月，冷冻储存血浆样品冻融不超过 2 次。血浆样品建议 2 倍以上稀释，例如：50μL 样品+50μL 的 1×通用稀释液，稀释后的血清样本可在 2~8°C 储存不超过 8 小时。建议取 1~2 份样本进行预实验确定最佳稀释度。

7. 实验步骤

使用前将所有试剂置于室温平衡 30 分钟左右，也可置于 37°C 温箱快速回温至室温。

注意：酶标板未恢复室温前，请勿开封。

1	每孔加入校准品/待测样品 50μL，之后每孔再加入一抗抗体 50uL。
2	盖上封板膜，在 37°C下孵育 60 分钟，或者室温置于微孔板振荡器*上震荡 60 分钟。
3	洗板 5 次，最后一次洗板后弃去残留洗液，倒扣酶标板，在干净的吸水纸上拍干。
4	每孔加入 100μL 酶标二抗工作液。
5	盖上封板膜，在 37°C下孵育 30 分钟，或者室温置于微孔板振荡器*上震荡 60 分钟。
6	洗板 5 次，最后一次洗板后弃去残留洗液，倒扣酶标板，在干净的吸水纸上拍干。
7	每孔加入 100μL 显色液
8	37°C下避光孵育 15**分钟。
9	每孔加入 50μL 终止液。
10	使用酶标仪在 450nm 检测波长及 620~690nm 参比波长条件下测定吸光度值，如果没有参比波长则仅选择 450nm 波长进行检测。如果最高浓度校准品 OD 值过高，应立即在 405/630nm 双波长条件下检测。

* 建议微孔板振荡器振幅选择 500~550RPM 转速。

** 孵育时间可结合显色程度适当增减，建议孵育中途适当观察显色强度。

• 结果计算

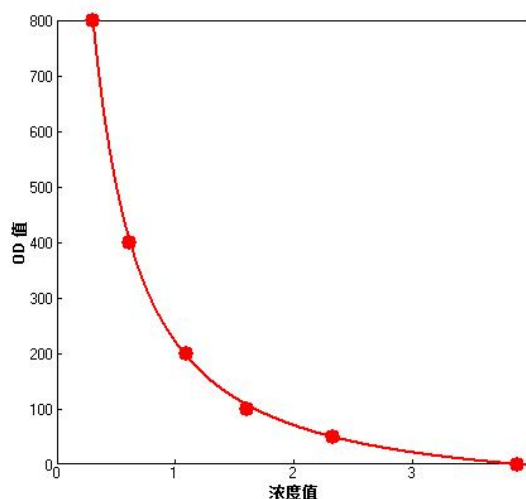
建议使用以下方式进行标准曲线的拟合：

● 四参数逻辑（4-P）曲线拟合：以浓度值为横坐标，吸光度值为纵坐标；

建议使用专业化软件进行结果拟合和计算，如 ELISACALC、SPSS、Graphpad Prism 等。

示例数据

以下数据和曲线仅供参考，实验者需根据自己的实验数据建立标准曲线。



8. 检测的局限性

样本浓度超出检测范围上限时，应当进行适当加大稀释倍数后再次检测，计算结果应当乘上稀释倍数。样本浓度低于 LOQ 定量限时，检测结果无法进行准确定量。

9. 产品性能指标

以下结果基于校准品的浓度值实验得出，未纳入基质效应等其他因素的潜在影响。

灵敏度：0.4pg/mL。

线性范围：0.78-50pg/mL

精密度：板内精密度 $CV < 10\%$ (N=20)，板间精密度 $CV < 15\%$ (N=20)。

特异性 (Analytical specificity)：其他相关因子在稀释缓冲液中制备为 10 μ g/mL 测定，没有观察到明显的交叉反应。

10. 注意事项

- 试剂盒内所有成分 **仅供研究使用!**
- 终止液含稀硫酸，具有腐蚀性，应谨慎操作。
- 试剂盒成分含防腐剂、蛋白成分等，可能引起皮肤过敏反应，应佩戴口罩避免吸入薄雾。
- 显色剂、浓缩洗液可能引起皮肤、眼睛和呼吸道刺激，应佩戴口罩避免吸入薄雾。
- 佩戴防护手套、防护服、眼睛和面部防护用品，实验操作后彻底洗手。

11. 技术要点

- 不同批次的试剂盒不能混用，不建议将不同板上的微孔板条组装在一块板上检测，尽管是同一批次试剂，也可能存在板与板之间的差异。
- 每次实验时应当始终配制标准曲线平行检测，不能将上一次的标准曲线用于下一次实验结果的计算。
- 不要使用超过有效期的试剂盒进行检测。
- 底物显色剂应当为无色，如变蓝表明已变质，不能应用于实验。
- 使用适当的封板膜密封微孔板条，以便检测结果更加可靠。
- 操作时尽量避免产生气泡。不要将不同试剂瓶的瓶盖交叉使用。
- 应当遵循说明书的操作进行实验，不按照说明书的操作将导致实验结果的变化，任何不遵循说明书的实验操作应当事先询问售后技术支持的建议。否则我们不保证实验结果的可靠。