

通用甲状腺素 (T4) ELISA 试剂盒

货号: PMK1276

保存: 2-8℃避光保存 12 个月

规格: 48T/96T

检测范围: 20-320ng/mL 灵敏度: 10ng/mL

精密度: 板内变异系数<15%, 板间变异系数<15%

回收率: 范围从 90%到 110%, 平均回收率 96%

特异性: 检测具有高灵敏度和优良的特异性。与三碘甲状腺原氨酸 (T3)、反三碘甲状腺原氨酸 (rT3) 没有显著交叉反应。

适用样本: 血清、血浆

检测原理

本试剂盒采用竞争抑制酶联免疫吸附法原理。酶标板预包被纯化的抗 T4 抗体。将待测抗原 (标准品或样本) 和生物素标记的抗原加入到酶标板中, 它们对固相抗体进行竞争结合。接着洗涤去除未结合的物质, 加入酶标记的亲合素, 形成固相抗体-生物素化 T₄-酶标亲合素复合物。然后, 加底物显色, 酶促反应产生蓝色物质, 加入终止液后, 变成黄色。颜色深浅与样本中待测抗原的含量呈现负相关。在 450nm 波长下测定吸光值。最后通过建立标准曲线, 根据 OD 值来计算样品中 T4 的浓度。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
预包被微孔板	48 孔	96 孔	2-8℃
标准品 (0, 20, 40, 80, 160, 320 ng/ml)	0.5mL×6	1mL×6	2-8℃
生物素化抗原	3mL	6mL	2-8℃
酶标亲合素	3mL	6mL	2-8℃
显色物 A	3.5mL	7mL	2-8℃避光保存
显色物 B	3.5mL	7mL	2-8℃避光保存
洗涤液 (20×)	7.5mL	15mL	2-8℃
终止液	3.5mL	7mL	2-8℃
封板膜	1 张	2 张	室温
说明书	1 份	1 份	室温

自备耗材

酶标仪 (能测 450nm 处的吸光度)

多通道移液器或自动洗板机

恒温箱、低温离心机

可调节式移液枪及枪头

去离子水

试剂准备

注意: 各组分 (小管试剂) 开盖前, 请先低速离心。

1. 使用前将所有试剂平衡至室温 (18-25℃)。按照酶标仪说明书进行设置检测波长为 450nm, 并在读板前预热 15 分钟。

产品说明书

2. 洗涤液:取浓缩洗涤液, 根据检测数量, 用去离子水或蒸馏水 1: 20 稀释, 混匀后备用。

样品收集

血清: 让血样在室温下凝结 2 小时或在 2-8℃下过夜, 然后在 2-8℃下 2000×g 离心 15 分钟。随后立即取上清液进行检测, 或存储在-20℃或-80℃备用。

血浆: 使用 EDTA 或肝素作为抗凝剂收集血浆。采集后 30 分钟内, 在 2-8℃, 2000×g 条件下离心样品 15 分钟, 随后立即取上清液进行检测, 或存储在-20℃或-80℃下备用。

注意: 不要使用严重溶血或脂血的标本。如果样品要在 2 天内使用, 则可以将其储存在 2-8℃, 长期保存需分装存储在-20℃或-80℃, 避免反复冻融。测定前, 应将冷冻样品缓慢升至室温并轻轻混合。

实验步骤

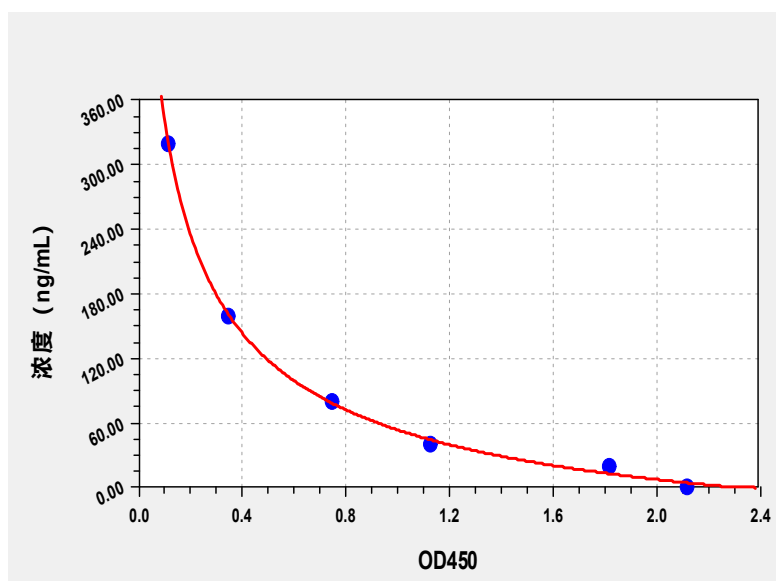
1. 从板框上取下多余的板条, 将它们放回装有干燥剂包的铝箔袋中, 然后重新密封。
2. 每孔加入 50 μL 标准品或样品, 建议所有标准品和样品做复孔。然后每孔加入 50 μL 生物素化抗原, 充分混匀, 给酶标板覆膜, 37℃孵育 1h。
3. 手工洗板: 弃去每孔中的液体, 每孔加入 350 μL 洗涤液。浸泡 30 秒再倒出每孔中液体并在干净的吸水纸上拍干。重复这个洗涤步骤, 共 3 遍。洗板机洗板: 选择洗涤 3 次程序洗板后拍干。
4. 每孔加入 50 μL 的酶标亲合素, 混匀, 盖上封板膜。37℃孵育 30 分钟。
5. 手工洗板: 弃去每孔中的液体, 每孔加入 350 μL 洗涤液。浸泡 30 秒再倒出每孔中液体并在干净的吸水纸上拍干。重复这个洗涤步骤, 共 5 遍。洗板机洗板: 选择洗涤 5 次程序洗板后拍干。
6. 每孔加入 50 μL 显色物 A 和 50 μL 显色物 B, 振荡混匀后, 置 37℃避光显色 15 分钟, 远离气流和其他温度波动。
7. 每孔加入 50 μL 终止液, 终止液应按照与显色物相同的顺序加到板中。孔中的颜色应从蓝色变为黄色。如果孔中的颜色为绿色或颜色变化不均匀, 请轻轻敲击板以确保彻底混合。
8. 30min 内测定每孔 450nm 处的吸光值。

结果计算

以 x 轴为 OD 值, y 轴为标准品浓度拟合一条标准曲线, 通过回归分析确定回归方程。将样本 OD 值作为 x 带入方程计算 y 值 (浓度)。

结果展示

典型标准曲线 ($R^2 \geq 0.99$)



人甲状腺素(T4)标准曲线。数据和曲线仅供参考, 实验者需根据自己的实验建立标准曲线

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。终止液有一定的腐蚀性，操作时请做好防护措施。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 新打开的 ELISA 酶标板可能含有水雾样物质，此为正常现象，不会对实验结果产生任何影响。未用完的板条应立即放回装有干燥剂的铝箔袋中，重新密封并在-20℃下存储。
5. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
6. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。
7. 为了得到准确的实验结果，在孵育过程中，必须确保封板膜将酶标板密封。
8. 在使用自动洗板机时，添加清洗缓冲液后，在清洗步骤之间添加 30 秒的浸泡时间可提高分析精度。
9. 显色物溶液保存过程中应无色，加入到酶标板中之后应从无色变为渐变蓝色。

疑难解答

问题	可能原因	解决措施
标曲线性不好	标准品稀释不正确	确保标准品按照推荐方法溶解和稀释
	移液不准确	定期校准移液器并检查枪头密封性
	反应液蒸发	用封板膜密封酶标板
	洗板不彻底	足够的洗涤次数和加入足量洗涤液
	孔底有异物	读数前清洁板底
显色弱或无	试剂反应不充分	确保孵育时间并按推荐温度孵育
	试剂体积添加不足	检查移液器并严格按照操作步骤操作
	稀释不正确	检查试剂稀释步骤
	酶结合物失活	混合酶结合物和底物，通过显色反应检查
OD 值低	酶标仪设置不正确	检查仪器波长
	没加终止液	加入适量终止液
	读板时等待时间太长	及时读板

相关产品：

PMK1275 通用三碘甲腺原氨酸 (T3) ELISA 试剂盒

PMK1277 通用游离三碘甲状腺原氨酸 (FT3) ELISA 试剂盒

PMK1278 通用游离甲状腺素 (FT4) ELISA 试剂盒

更多产品详情了解，请关注公众号：

