

25-羟基胆固醇（25 -OHC）ELISA KIT

英文名称：（25 -OHC）ELISA KIT

规格：96T

货号：NL3236

尊敬的客户:

感谢您选用本公司 ELISA 系列产品。本产品选用世界著名生产厂家的原料，采用专业体外诊断试剂生产技术制造，仅供科研使用。本试剂盒用于测定样本中 25-羟基胆固醇（25 -OHC）的含量。具体适用样本请咨询。使用前请仔细阅读说明书并检查试剂组分。如有疑问，请咨询：武汉纽莱生物科技有限公司 Email:sale@newlif.com.cn 电话: 186740131376（微信同步）

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断。

实验原理

本试剂盒应用酶联免疫竞争法测定标本中25-羟基胆固醇（25-OHC）水平。用纯化的25-羟基胆固醇（25-OHC）抗体包被微孔板，制成固相抗体，往包被单抗的微孔中加入25-羟基胆固醇（25-OHC），和HRP 标记的25-羟基胆固醇（25-OHC）抗原，使它们竞争结合，，经过彻底洗涤后加底物TMB 显色。样本颜色的深浅和样品中的25-羟基胆固醇（25-OHC）的含量呈负相关。用酶标仪在450nm波长下测定吸光度（OD 值），通过标准曲线计算样品中25-羟基胆固醇（25-OHC）的含量。

用途：本试剂盒用于测定样本中25-羟基胆固醇（25-OHC）的含量。

基本性能：

性能	
灵敏度	0.25 µg/L
检测范围	1 µg/L -50 µg/L
特异性	可检测样本中 25-羟基胆固醇（25-OHC）的含量。且与其他类似物无明显交叉反应
重复性	板内，板间变异系数均《10%

试剂盒组成及保存

中文名称	规格	开封后保存条件
ELISA 酶标板	96T: 8 孔×12 条 48T: 8 孔×6 条	2-8℃ 90天
酶标试剂	96T: 6mlx1 48T: 3mlx1	2-8℃ 90天
标准品S1	40μg/L	
标准品S2	20μg/L	
标准品S3	10μg/L	
标准品S4	5μg/L	
标准品S5	2.5μg/L	
样品稀释液	96T: 6mlx1 48T: 3mlx1	2-8℃ 180天
显色剂A	96T: 6mlx1 48T: 3mlx1	2-8℃(避光) 180天
显色剂B	96T: 6mlx1 48T: 3mlx1	2-8℃(避光) 180天
终止液	96T: 6mlx1 48T: 3mlx1	2-8℃ 180天 180天
30倍浓缩洗涤液	96T: 20mlx1 48T: 10mlx1	2-8℃ 180天 180天
说明书	1份	
封板膜	2张	
密封袋	1个	

说明：未拆封的试剂盒可以在2-8℃ 保存六个月

试剂盒所需自备物品

- 1.酶标仪(450nm波长滤光片)
- 2.高精度移液器，EP管及一次性吸头：0.5-10μL, 2-20μL, 20-200μL, 200-1000μL
3. 37℃恒温箱
4. 双蒸水或去离子水
5. 吸水纸
6. 加样槽

样品收集方法

1. 血清：用无菌管收集，室温血液自然凝固10-20分钟，2-8℃条件离心20分钟左右（2000-3000转/分）仔细收集上清，保存过程中如出现沉淀，应再次离心。
2. 血浆：应根据标本的要求选择EDTA、肝素钠或柠檬酸钠作为抗凝剂，混合10-20分钟后，2-8℃条件离心20分钟左右（2000-3000转/分），仔细收集上清，保存过程中如有沉淀形成应该再次离心。
3. 尿液：用无菌管收集，2-8℃条件离心20分钟左右（2000-3000转/分）。仔细收集上清，保存过程中如有沉淀形成，应再次离心。
4. 组织匀浆：用预冷的PBS (0.01M, pH=7.4)冲洗组织，去除残留血液，称重后将剪碎的组织与对应体积的PBS（一般按1:9的重量体积比，比如1g的组织样品对应9 mL的PBS，具体体积可根据实验需要适当调整，并做好记录。推荐在PBS中加入蛋白酶抑制剂）加入玻璃匀浆器中，在冰上充分研磨。为了进一步裂解组织细胞，可以对匀浆液进行反复冻融或超声破碎。最后将匀浆液于2-8℃，5000×g离心5-10分钟取上清检测。
5. 细胞提取液：贴壁细胞用冷的PBS轻轻清洗，然后用胰蛋白酶消化，1000×g离心5分钟后收集细胞。悬浮细胞可直接离心收集。收集的细胞用冷的PBS洗涤3次。每10⁶个细胞中加入150-200 μL PBS重悬（推荐在PBS中加入蛋白酶抑制剂；若含量很低可减少PBS的体积）并通过反复冻融或超声使细胞破碎。将提取液于2-8℃，1500×g离心10分钟，取上清检测。
6. 细胞培养上清或其他生物体液：收集液体后于2-8℃，1000×g离心20分钟，除去杂质及细胞碎片，取上清检测。

试剂盒注意事项

1. 试剂盒从冷藏环境中取出应在室温平衡15-30分钟后方可使用，酶标包被板开封后如未用完，板条应装入密封袋中保存。
2. 浓洗涤液可能会有结晶析出，稀释时可在水浴中加温助溶，洗涤时不影响结果。
3. 各步加样均应使用加样器，并经常校对其准确性，以避免试验误差。一次加样时间最好控制在5分钟内，如标本数量多，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。如标本中待测物质含量过高（样本OD值大于标准品孔第一孔的OD值），请先用样品稀释液稀释一定倍数（n倍）后再测定，计算时请最后乘以总稀释倍数（n×5）。
5. 封板膜只限一次性使用，以避免交叉污染。
6. 底物请避光保存。
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。
8. 所有样品，洗涤液和各种废弃物都应按传染物处理。
9. 本试剂不同批号组分不得混用。

标本收集注意事项

1. 若标本为匀浆组织：用丁醇：甲醇：水(5：25：70 V：V：V) 配比出来的液体，替代PBS，其余操作一样。
2. 不能检测含 NaN₃ 的样品，因 NaN₃ 抑制辣根过氧化物酶的（HRP）活性。
3. 标本采集后尽快进行实验，若不能马上进行试验，可将标本放于-20℃保存，但应避免反复冻融。
4. 我们罗列的是通用的样本处理方法，无法涵盖各种样本，对于一些特殊样本，建议实验人员多参考已发表的文献，自行设计合理的样本 处理方法。

操作步骤

1. 加样：分别设标准孔、空白孔（空白对照孔不加样品及酶标试剂，其余各步操作相同）、待测样品孔。在酶标包被板上标准孔中加 50 微升，待测样品 孔中先加样品稀释液 40μl，然后再加待测样品 10μl（样品最终稀释度为 5 倍）。加样将样品加于酶标板孔底部，尽量不触及孔壁，轻轻晃动混匀。
2. 加酶：每孔加入酶标试剂 50μl，空白孔除外。
3. 温育：用封板膜封板后置 37℃温育 60 分钟。
4. 配液：将 30 倍浓缩洗涤液用蒸馏水 30 倍稀释后备用
5. 洗涤：小心揭掉封板膜，弃去液体，甩干，每孔加满洗涤液，静置 30 秒后弃去，如此重复 5 次，拍干。
6. 显色：每孔先加入显色剂 A50μl，再加入显色剂 B50μl，轻轻震荡混匀，37℃避光显色15 分钟。
7. 终止：每孔加终止液 50μl，终止反应（此时蓝色立转黄色）。
8. 测定：以空白孔调零，450nm 波长依序测量各孔的吸光度（OD 值）。测定应在加终止液后 15 分钟以内进行。

结果判断：

- 1.每个标准品和标本的OD 值应减去空白孔的OD 值。
- 2.以标准品的浓度为横坐标，OD 值为纵坐标，利用计算机软件采用直线回归的拟合方法创 建标准曲线方程，通过样本的吸光度（OD值），利用方程计算样品的浓度值。
- 3.若样本的OD值高于标准曲线上限，应适当稀释后重测，计算浓度时应乘以稀释倍数。

典型数据

由于实验操作条件的不同（如操作者、移液技术、洗板技术和稳定条件等），标准曲线的OD值会有所差异。详情请看质检报告。