小鼠乙酰辅酶A（A-CoA）酶联免疫分析

试剂盒使用说明书

本试剂盒只能用于科学研究，不得用于医学诊断

▶ 产品包装

货号	名称	规格
TS-M1511A/TS-M1511	小鼠乙酰辅酶A（A-CoA）酶联免疫分析	48T/96T

▶ 检测范围

30pmol/L - 1000 pmol/L

▶ 使用目的

本试剂盒用于测定小鼠血清、血浆及相关液体样本中乙酰辅酶 A（A-CoA）含量。

▶ 实验原理

本试剂盒应用双抗体夹心法测定标本中小鼠乙酰辅酶 A（A-CoA）水平。用纯化的小鼠乙酰辅酶 A（A-CoA）抗体包被微孔板，制成固相抗体，往包被单抗的微孔中依次加入乙酰辅酶 A（A-CoA），再与 HRP 标记的乙酰辅酶 A（A-CoA）抗体结合，形成抗体-抗原-酶标抗体复合物，经过彻底洗涤后加底物 TMB 显色。TMB 在 HRP 酶的催化下转化成蓝色，并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和样品中的乙酰辅酶 A（A-CoA）呈正相关。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小鼠乙酰辅酶 A （A-CoA）浓度。

▶ 试剂盒组成

1	30 倍浓缩洗涤液	20ml×1 瓶	7	终止液	6ml×1 瓶
2	酶标试剂	6ml×1 瓶	8	标准品（2000 pmol/L）	0.5ml×1 瓶
3	酶标包被板	12 孔×8 条	9	标准品稀释液	1.5ml×1 瓶
4	样品稀释液	6ml×1 瓶	10	说明书	1 份
5	显色剂 A 液	6ml×1 瓶	11	封板膜	2 张
6	显色剂 B 液	6ml×1/瓶	12	密封袋	1 个

▶ 标本要求

1．标本采集后尽早进行提取，提取按相关文献进行，提取后应尽快进行实验。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

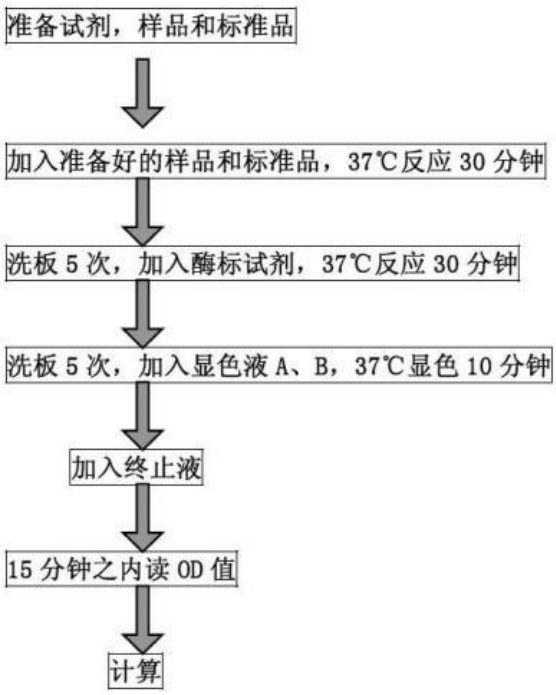
2．不能检测含NaN3 的样品，因 NaN3 抑制辣根过氧化物酶的（HRP）活性。

▶ 操作步骤

1. 标准品的稀释：本试剂盒提供原倍标准品一支，用户可按照下列图表在小试管中进行稀释。

1000pmol/L	5 号标准品	150μl 的原倍标准品加入 150μl 标准品稀释液
500pmol/L	4 号标准品	150μl 的 5 号标准品加入 150μl 标准品稀释液
250pmol/L	3 号标准品	150μl 的 4 号标准品加入 150μl 标准品稀释液
125pmol/L	2 号标准品	150μl 的 3 号标准品加入 150μl 标准品稀释液
62.5pmol/L	1 号标准品	150μl 的 2 号标准品加入 150μl 标准品稀释液

2. 加样：分别设空白孔（空白对照孔不加样品及酶标试剂，其余各步操作相同）、标准孔、待测样品孔。在酶标包被板上标准品准确加样 50μl，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。
3. 温育：用封板膜封板后置 37℃温育 30 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. 加酶：每孔加入酶标试剂 50μl ，空白孔除外。
7. 温育：操作同 3。
8. 洗涤：操作同 5。
9. 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 10 分钟.
10. 终止：每孔加终止液 50μl ，终止反应（此时蓝色立转黄色）。
11. 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。



▶ 计算

以标准物的浓度为横坐标，OD 值为纵坐标，在坐标纸上绘出标准曲线，根据样品的OD 值由标准曲线查出相应的浓度；再乘以稀释倍数；或用标准物的浓度与OD 值计算出标准曲线的直线回归方程式，将样品的OD 值代入方程式，计算出样品浓度，再乘以稀释倍数，即为样品的实际浓度。

▶ 注意事项

1．试剂盒从冷藏环境中取出应在室温平衡 1 小时后方可使用，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。

▶ 保存条件及有效期

1．试剂盒保存：；2-8℃。

2．有效期：6 个月