



A&E Bio

人 (Human) 丁酰胆碱酯酶(BCHE)酶联免疫吸附 测定检测试剂盒

使用说明书

- ◆种 属：人
- ◆规 格：48T/96T
- ◆保存温度：2-8 °C
- ◆货 号：AE22023H
- ◆检测范围：0.31-20ng/mL
- ◆保 质 期：6 个月

公司网址：www.ae-bio.com

E-mail：aebio666@163.com



检测原理

本试剂盒利用抗原抗体特异性结合原理开展双抗体夹心法酶联免疫吸附试验（Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA），即通过向预先包被有人丁酰胆碱酯酶(BCHE)捕获抗体的微孔中，依次加入样本、标准品、生物素标记的检测抗体，HRP 酶结合物，经过孵育和洗涤后，用底物TMB显色。TMB在HRP的催化下会变成蓝色，并在酸的作用下最终变成黄色。孵育完成后，用酶标仪在450nm波长下测定溶液吸光度值（OD值），结合标准曲线计算样品浓度。液体颜色的深浅和样品中的目的蛋白或分子含量呈正相关。

灵敏度：0.18ng/mL

特异性：本试剂盒仅识别人组织标本中的BCHE，与其他类似蛋白或分子无明显交叉反应。

注意事项

1. 本试剂盒仅用于人内源性 BCHE 蛋白浓度测定，不可用于其他物种 BCHE 含量检测。
2. 所有试剂在使用前应平衡至室温（20-25 °C），使用完后立即置于 2-8 °C 保存。
3. 请按照推荐的温度和时间孵育微孔板，孵育时避免强光直接照射。
4. 操作要认真仔细，确保加入试剂体积和质量的准确性。
5. 建议将待测样品用样本稀释液按一定比例（至少 2 倍）稀释后再加入酶标板，以减少基质效应对检测结果的影响。在计算样品浓度时，乘以对应稀释比例，即得样品原始浓度。
6. 洗板动作要轻柔，尽量沿孔壁加入液体，切记强力冲洗板底；同时注意吸尽残存液体。
7. 孵育过程中注意防止微孔板液体蒸发，导致“干板”。
8. 在使用酶标仪测量前，注意彻底清除板底残留液体、污渍和指纹，以免影响实验结果。
9. 底物显色液应为无色或浅色，变蓝后不可用于实验检测。
10. 有序存放试剂和标本，避免交叉污染。
11. 不能使用过期或变质产品，不同货号 and 批次产品不得混合使用。
12. 实验剩余的板条应立即放回自封袋中，密封后低温干燥保存。
13. 在使用本试剂盒时，请注意做好个人防护。
14. 完成检测后，请按照废弃试剂处理要求处置相关样品、试剂及耗材。



样品收集及保存方法

- 血清：**使用血清分离管收集全血标本，室温（约 25 °C）放置 2 小时或 4 °C 冰箱放置过夜，3000 转离心 10 分钟或 1000 g 离心 20 分钟，取上清立即检测，或将上清置于-20 °C 或-80 °C 冰箱保存，但应避免反复冻融。
- 血浆：**用 EDTA 或肝素抗凝管采集血液标本，在 4 °C 条件下 3000 转离心 20 分钟或 1000 g 离心 15 分钟，取上清立即检测，或将上清置于-20 °C 或-80 °C 冰箱保存，但应避免反复冻融。
- 组织匀浆：**使用预冷的 PBS（pH=7.0-7.4）溶液洗涤组织，尽量洗去残存血液（裂解的红细胞会影响测量结果准确性），称重后将组织剪碎，按 1:9 的质量体积比（即 1 g 组织加入 9 mL 溶液）加入 PBS 溶液（建议加入适量蛋白酶抑制剂），采用玻璃匀浆器充分研磨。后将匀浆液转入离心管中，5000 g 离心 10 分钟，取上清立即检测，或将上清置于-20 °C 或-80 °C 冰箱保存，但应避免反复冻融。
- 细胞培养上清：**吸取细胞培养液，1000 g 离心 20 分钟，取上清立即检测，或将上清置于-20 °C 或-80 °C 冰箱保存，但应避免反复冻融。
- 其他标本：**视具体情况确定，腹腔积液、胸腔积液和关节积液等的收集和存储方法同细胞培养上清。
- 样品外观：**样品在液态时应澄清透明，处理时应尽量通过离心去除悬浮物和漂浮物。
- 样品保存：**样本收集后如在一周内检测，可置于 4 °C 保存；若不能及时检测，请按一次使用量进行小份分装，置于-20 °C（1 个月内检测）或-80 °C（半年内检测）保存，避免反复冻融。

自备物品

- 酶标仪（检测波长 450 nm）。
- 高精度移液器及枪头：0.5-10 μ L、2-20 μ L、20-200 μ L 和 100-1000 μ L。
- 37°C 恒温孵育箱。
- 蒸馏水或去离子水。



试剂盒组成

名称	96T	48T	备注
微孔酶标板	8孔×12条	8孔×6条	无
标准品	2支	1支	按说明书进行稀释
通用稀释液	2×20mL	1×20ml	无
浓缩生物素化检抗 100x	120 μL	60 μL	按说明书进行稀释
浓缩酶结合物 100x	120 μL	60 μL	按说明书进行稀释
20×洗涤缓冲液	2×10mL	1×10mL	按说明书进行稀释
底物	10mL	5mL	无
终止液	6mL	3mL	无
封板膜	2张	2张	无
说明书	1份	1份	无

检测前准备工作

1. 提前 10 分钟将试剂盒从冰箱中取出，平衡至室温（20-25 °C）。
2. 标准品梯度工作液配制：加入 1mL 通用稀释液至冻干标准品中，静置 15 分钟待其完全溶解后轻轻混匀（浓度为 20ng/mL），然后按照以下浓度：20ng/mL、10ng/mL、5ng/mL、2.5ng/mL、1.25ng/mL、0.62ng/mL、0.31ng/mL、0ng/mL 进行稀释。倍比稀释方法：取 7 支 EP 管，每管中加入 500 μL 通用稀释液，20ng/mL 的标准品工作液中吸取 500 μL 到第一支 EP 管中混匀配成 10ng/mL 的标准品工作液，按此步骤往后依次吸取混匀。最后一管直接作为空白孔，不需要再从倒数第二管中吸取液体。
3. 生物素化检抗工作液配制：使用前 15 分钟将浓缩生物素化抗体于 1000×g 离心 1 分钟，以通用稀释液将 100×浓缩生物素化抗体稀释成 1×工作浓度（例：10 μL 浓缩液 +990 μL 通用稀释液），当日使用。
4. 酶结合物工作液配制：使用前 15 分钟将 100x 浓缩酶结合物于 1000×g 离心 1 分钟，以通用稀释液将 100×浓缩 HRP 酶结合物稀释成 1×工作浓度（例：10 μL 浓缩液 +990 μL 通用稀释液），当日使用。
5. 1×洗涤液配制：取 10ml 20×洗涤液到 190ml 蒸馏水中（从冰箱中取出的浓缩洗涤液可能有结晶，属于正常现象，可放置室温，轻摇均匀，待结晶完全溶解后再配置）。



操作步骤

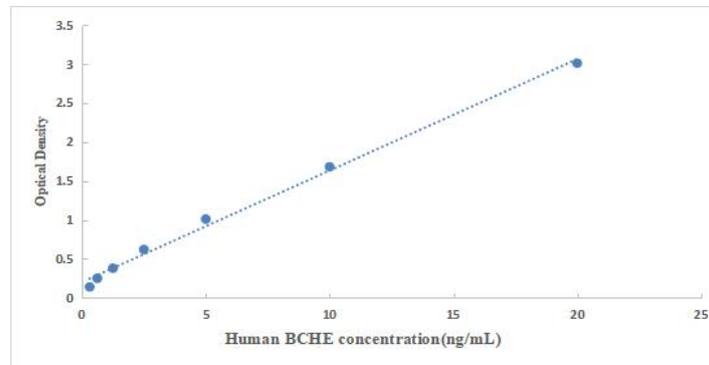
1. 将铝箔袋在室温平衡 20 分钟，从中取出所需板条，剩余板条使用自封袋密封，4℃干燥保存。
2. 加样：分别将样品或不同浓度标准品按照 100 μ l 每孔加入相应孔中，空白孔加入 100 μ L 通用稀释液。盖上封板膜后 37℃温育 1 小时。**(建议：将待测样本用通用稀释液最低稀释 1 倍后再加入酶标板内测试。从而减少基质效应对测试结果的误差影响，最后计算样本浓度时需乘以对应的稀释倍数。所有的待测样本和标准品在检测中建议设立复孔)。**
3. 加生物素化抗体：取出酶标板，弃去液体，不用洗涤。每孔直接加入生物素化抗体工作液 100 μ L，盖上封板膜后 37℃温育 1 小时。
4. 洗板：弃去液体，每孔加入 300 μ L 1x 洗涤液，静置 1 分钟，甩去洗涤液，吸水纸上拍干，如此重复洗板 3 次（也可用洗板机洗板）。
5. 加酶结合物工作液：每孔加入酶结合物工作液 100 μ L，盖上封板膜后 37℃温育 30 分钟。
6. 洗板：弃去液体按步骤 4 洗涤方法，洗板 5 次。
7. 加底物：每孔加入底物(TMB)90 μ L，盖上封板膜，37℃避光温育 15 分钟。
8. 加终止液：取出酶标板，每孔直接加入终止液 50 μ L，立即在 450nm 波长处测定各孔的 OD 值。

实验结果计算

1. 标准曲线绘制：计算标准品和待测样本各复孔的平均 OD 值，减去空白孔的 OD 值，作为校正 OD 值。以浓度为横坐标，对应 OD 值为纵坐标，在 Excel 工作表中绘制出标准品线性回归曲线。
2. 按曲线方程计算各样本浓度值。若样品 OD 值高于标准曲线上限，应对样品做适当稀释，计算出结果后乘以相应稀释倍数，即得目的分子原始浓度。
3. 标准曲线示例。此数据和曲线仅供参考，实验人员应根据自身试验建立标准曲线，计算样本目的分子浓度。



浓度 (ng/mL)	20	10	5	2.5	1.25	0.62	0.31	0
测定 OD 值	3.09	1.76	1.09	0.70	0.46	0.33	0.22	0.08
校正 OD 值	3.01	1.68	1.01	0.62	0.38	0.25	0.14	



注：本图和标准曲线仅供参考，应以同批次试验标准品对应 OD 值绘制标准曲线，计算目的分子含量。

试剂盒性能

1. 准确性：标准品线性回归与预期浓度相关系数 R 值应大于等于 0.9900。
2. 重复性：板内变异系数小于 10%、板间变异系数小于 10%。
3. 特异性：与其它可溶性结构类似物无交叉反应。

免责声明

1. 本试剂盒仅供科学研究使用，不得用于临床检验或人体实验，否则一切后果由实验者承担，本公司概不负责。
2. 请严格按照说明书要求进行实验操作，违反说明书操作规范，造成后果的由实验者承担。