

## 人皮质醇（Cortisol）酶联免疫分析（ELISA）试剂盒

本试剂仅供研究使用

目的：本试剂盒用于测定人血清，唾液及相关液体样本中皮质醇（Cortisol）的含量。

产品货号：10051HU

产品规格：48T/96T

### 实验原理：

本试剂盒应用双抗体夹心法测定标本中人皮质醇（Cortisol）水平。用纯化的人皮质醇（Cortisol）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皮质醇（Cortisol），再与HRP标记的皮质醇（Cortisol）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人皮质醇（Cortisol）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人皮质醇（Cortisol）浓度。

### 产品组成：

产品名称	48T	96T	保存条件
说明书	1份	1份	
封板膜	2片（48）	2片（96）	
密封袋	1个	1个	
酶标包被板	1×48	1×96	2-8℃
标准品：135ug/L	0.5ml×1瓶	0.5ml×1瓶	2-8℃
标准品稀释液	1.5ml×1瓶	1.5ml×1瓶	2-8℃
酶标试剂	3ml×1瓶	6ml×1瓶	2-8℃
样品稀释液	3ml×1瓶	6ml×1瓶	2-8℃
显色剂A液	3ml×1瓶	6ml×1瓶	2-8℃
显色剂B液	3ml×1瓶	6ml×1瓶	2-8℃
终止液	3ml×1瓶	6ml×1瓶	2-8℃
浓缩洗涤液	（20ml×20倍）×1瓶	（20ml×30倍）×1瓶	2-8℃

### 样本处理及要求：

1. 血清：室温血液自然凝固10-20分钟，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或柠檬酸钠作为抗凝剂，混合10-20分钟后，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，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。胸腹水、脑脊液参照实行。
4. 细胞培养上清：检测分泌性的成份时，用无菌管收集。离心20分钟左右（2000-3000转/分）。仔细收集上清。检测细胞内的成份时，用PBS（PH7.2-7.4）稀释细胞悬液，细胞浓度达到100万/ml左右。通过反复冻融，以使细胞破坏并放出细胞内成份。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。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

5. 组织标本：切割标本后，称取重量。加入一定量的PBS，PH7.4。用液氮迅速冷冻保存备用。标本融化后仍然保持2-8℃的温度。加入一定量的PBS（PH7.4），用手工或匀浆器将标本匀浆充分。离心20分钟左右（2000-3000转/分）。仔细收集上清。分装后一份待检测，其余冷冻备用。
6. 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。
7. 不能检测含NaN<sub>3</sub>的样品，因NaN<sub>3</sub>抑制辣根过氧化物酶的（HRP）活性。

#### 操作步骤：

1. 标准品的稀释与加样：在酶标包被板上设标准品孔10孔，在第一、第二孔中分别加标准品100μl，然后在第一、第二孔中加标准品稀释液50μl，混匀；然后从第一孔、第二孔中各取100μl分别加到第三孔和第四孔，再在第三、第四孔分别加标准品稀释液50μl，混匀；然后在第三孔和第四孔中先各取50μl弃掉，再各取50μl分别加到第五、第六孔中，再在第五、第六孔中分别加标准品稀释液50μl，混匀；混匀后从第五、第六孔中各取50μl分别加到第七、第八孔中，再在第七、第八孔中分别加标准品稀释液50μl，混匀后从第七、第八孔中分别取50μl加到第九、第十孔中，再在第九第十孔分别加标准品稀释液50μl，混匀后从第九第十孔中各取50μl弃掉。（稀释后各孔加样量都为50μl，浓度分别为90ug/L，60ug/L，30ug/L，15ug/L，7.5ug/L）。
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）、待测样品孔。在酶标包被板上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. 加酶：每孔加入酶标试剂50μl，空白孔除外。
4. 温育：用封板膜封板后置37℃温育30分钟。
5. 配液：将30（48T的20倍）倍浓缩洗涤液用蒸馏水30（48T的20倍）倍稀释后备用。
6. 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。
7. 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。
8. 终止：每孔加终止液50μl，终止反应（此时蓝色立转黄色）。
9. 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。

#### 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（ $\times n \times 5$ ）。
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。
10. 如与英文说明书有异，以英文说明书为准。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

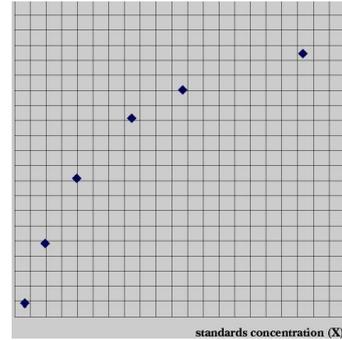
免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

#### 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。



(此图仅供参考)

#### 试剂盒性能:

1. 样品线性回归与预期浓度相关系数R值为0.92以上。
2. 批内与批间应分别小于9%和15%。

#### 检测范围:

5ug/L-100ug/L。

#### 保存条件:

2-8℃，6个月有效。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com