

# 产品说明书

产品编号: NBE-236781

版本号: RN6.0



<b>产品名称</b>	NebuEasy™ 人25羟基维生素D(25-OH-VD)ELISA试剂盒
<b>产品规格</b>	48T/96T
<b>检测范围</b>	2nmol/L -50nmol/L
<b>储存条件</b>	4°C保存, 有效期见标签
<b>产品应用</b>	NebuEasy™ 人25羟基维生素D(25-OH-VD)ELISA试剂盒 (产品编号: NBE-236781) 可用于测定人血清, 血浆及相关液体样本中 25 羟基维生素 D (25-OH-VD) 含量。
<b>检测原理</b>	本试剂盒应用双抗体夹心法测定标本中人 25 羟基维生素 D (25-OH-VD) 水平。用纯化的人 25 羟基维生素 D (25-OH-VD) 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 25 羟基维生素 D (25-OH-VD), 再与 HRP 标记的 25 羟基维生素 D (25-OH-VD) 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 25 羟基维生素 D (25-OH-VD) 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 25 羟基维生素 D (25-OH-VD) 浓度。
<b>试剂盒组分</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>◇ 30×浓缩洗涤液 (20ml×1瓶)</li><li>◇ 酶标试剂 (6ml×1瓶)</li><li>◇ 酶标包被板 (12孔×8条)</li><li>◇ 样品稀释液 (6ml×1瓶)</li><li>◇ 显色剂A液 (6ml×1瓶)</li><li>◇ 显色剂B液 (6ml×1/瓶)</li><li>◇ 终止液 (6ml×1/瓶)</li><li>◇ 标准品 (96nmol/L) (0.5ml×1瓶)</li><li>◇ 标准品稀释液 (1.5ml×1瓶)</li><li>◇ 封板膜 (2张)</li><li>◇ 密封袋 (1个)</li></ul>

# 产品说明书

产品编号: NBE-236781

版本号: RN6.0



## [操作步骤]

### 1. 标准品稀释:

标准品编号	标准品浓度	标准品配置方法
5号标准品	48nmol/L	将150μl的原始标准品加入150μl标准品稀释液
4号标准品	24nmol/L	将150μl的5号标准品加入150μl标准品稀释液
3号标准品	12nmol/L	将150μl的4号标准品加入150μl标准品稀释液
2号标准品	6nmol/L	将150μl的3号标准品加入150μl标准品稀释液
1号标准品	3nmol/L	将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, 尽量不触及壁, 轻轻晃动混匀。

**3. 温育:** 用封板膜封板后置37°C温育30分钟。

**4. 配液:** 将30倍 (48T的20倍) 浓缩洗涤液用蒸馏水30倍 (48T的20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:** 操作同步骤3。

**8. 洗涤:** 操作同步骤5。

**9. 显色:** 每孔先加入显色剂A 50μl, 再加入显色剂B 50μl, 轻轻震荡混匀, 37°C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。

## [结果计算]

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) 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°C保存, 但应避免反复冻融。另外, 本试剂盒不能检测含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。

2) 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

# 产品说明书

产品编号: NBE-236781

版本号: RN6.0



中保存。

3) 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。

4) 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。

5) 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( $\times n \times 5$ )。

6) 封板膜只限一次性使用, 以避免交叉污染。

7) 底物请避光保存。

8) 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

9) 所有样品, 洗涤液和各种废弃物都应按传染物处理。