



血清素/5-羟色胺(ST/5-HT)检测试剂盒 (酶联免疫吸附法)

产品货号: PCDBA0104

规格: 96T / 盒

检测范围: 15.6ng/ml—1000ng/ml

工作原理

本试剂盒采用竞争 ELISA 法。用 ST/5-HT 抗原包被于酶标板上，实验时样品或标准品中的 ST/5-HT 与包被的 ST/5HT 竞争生物素标记的抗 ST/5-HT 单抗上的结合位点，游离的成分被洗去。加入 SA-HRP，生物素与 SA 特异性结合而形成免疫复合物，游离的成分被洗去。加入 TMB 显色底物，TMB 在辣根过氧化物酶的催化下呈现蓝色，加终止液后变成黄色。用酶标仪在 450nm 波长处测 OD 值，ST/5-HT 浓度与 OD450 值之间呈反比，通过绘制标准曲线计算出样品中 ST/5-HT 的浓度

试剂盒组份列表

内容	规格	数量
ST/5-HT 预包被板	96T / Kit	1 板
ST/5-HT 标准品	1000ng / 支	2 支
ST/5-HT 生物素抗体（100X）	120ul / 支	1 支
SA-HRP（100X）	120ul / 支	1 支
样品稀释液	20ml / 瓶	1 瓶
抗体稀释液	12ml / 瓶	1 瓶
SA-HRP 稀释液	12ml / 瓶	1 瓶
TMB 显色液	10ml / 瓶	1 瓶
TMB 终止液	10ml / 瓶	1 瓶
洗涤缓冲液（25X）	20ml / 瓶	1 瓶
封板膜		4 张

使用前请先检查试剂盒中的试剂组份和数量是否与本表格内容一致

实验涉及设备

- 96 孔板酶标分析仪（450nm）
- 37℃恒温培养箱
- 可调节移液器 / 多通道移液器及吸头
- 去离子水（用于稀释洗涤液 25X，稀释至 1X 使用）

注意事项

- TMB 显色液为无色透明液体，若发现颜色异常或出现浑浊度，及时与我司联系；
- 严格避免操作过程中酶标板的干燥，预防导致板孔的蛋白活性丢失或引起假阳性；
- 为避免交叉污染，请勿重复使用吸头或试管；
- 禁止使用不同批次的试剂盒内试剂组份；
- 使用前计算好需要的酶标板条数量，剩余数量请及时放置 2~8℃干燥保存；
- 封板膜因粘性较强，以便更好的封闭板孔，在粘贴和揭开时，请勿过力，防止孔内液体因急剧震荡而溅出；
- 试剂盒中的浓缩液在使用前需提前（1 小时以内）配制成工作液，为避免检测效价下跌，建议按照每次使用量稀释；
- 试剂盒中的各组份应在使用前恒温至室温。

样品的准备和保存

样本在采集时，若样本量较大，需第一时间根据每次使用量分装，冷冻保存，保存时请勿反复冻融；

血清/血浆样本：按照常规样本收集方法收集后，短期保存，应立即分装后放置 2-8℃冷藏保存；长期保存，应立即分装后放置-20℃冷冻保存；

细胞上清液/组织匀浆：离心去除沉淀后，立即分析检测或分装后-20℃冷冻保存；

细胞裂解液：对于贴壁细胞，去除培养液，用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗一遍。加入适量裂解液，用枪吹打数下，使裂解液和细胞充分接触。通常 10 秒后，细胞就会被裂解。对于悬浮细胞，离心收集细胞，用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗一遍。加入适量裂解液，用枪吹打把细胞吹散，用手指轻弹以充分裂解细胞。充分裂解后，10000—14000g 离心 3-5 分钟，取上清。立即分析或分装后-20℃冷冻保存
尿液：用无菌管收集，离心 20min 左右（2000-3000rpm/min），收集上清，如有沉淀形成，应再次离心。

样品稀释一般原则

因试剂盒检测范围有限，用户使用前须估计样品待测指标的含量，决定适当的稀释倍数，以使稀释后样品中待测指标的浓度处于 ELISA 试剂盒的最佳检测范围。根据待测因子含量高、中、低的不同，分别采取不同的稀释方案。

试剂的准备和保存

- ST/5-HT 标准品的稀释和使用：
 - 配制 1000ng/ml 标准品：在使用前半小时左右，取 1ml 样品稀释液加入标准品管内，盖好盖后静置 10min 以上，然后反复颠倒/搓揉以助其溶解，获得 1000ng/ml 的标准品液
 - 配制 500ng/ml~15.6ng/ml 标准品：准备 6 只 EP 管，每管加入 0.3ml 样品稀释液，分别标记为：500ng/ml、250ng/ml、125ng/ml、62.5ng/ml、31.3ng/ml、15.6ng/ml，取 0.3ml 1000ng/ml 的标准品溶液加入标记 500ng/ml 的管中，混匀后梯度取出 0.3ml，加入下一只 EP 管中，混匀，以此类推；

注意：已稀释 ST/5-HT 标准品溶液（1000ng/ml），需要在 12h 以内使用完，若时间较长（48h 以内），则放置-20℃保存，但不得反复冻融。

二、ST/5-HT 生物素抗体工作液的准备：

2.1 根据每孔需要 50ul 计算总的用量（实际配制时应多配制 50-100ul）。

2.2 按 ST/5-HT 生物素抗体（100X）1ul 加入抗体稀释液 99ul 配制工作液混匀。

三、SA-HRP 工作液的准备：

3.1 根据每孔需要 100ul 计算总的用量（实际配制时应多配制 100-200ul）。

3.2 按 SA-HRP（100X）1ul 加 SA-HRP 稀释液 99ul 配制工作液混匀。

实验步骤

- 根据待检测样品数量，计算好所需使用的板孔数量，增加 1 孔为 TMB 显色空白对照孔。总数=样本数+7（标准品）+1（零值孔）。做复孔检测的数量 X2.其余板条及时包装好放回冰箱密封干燥保存；
- ST/5-HT 标准品，利用样品稀释液稀释出浓度梯度为：1000ng/ml、500ng/ml、125ng/ml、62.5ng/ml、31.3ng/ml、15.6ng/ml；
- 在第一排中依次加入标准品浓度梯度以及待检测样品，第一孔为零孔（样品稀释液），50ul / 孔（若样本浓度过高可利用样品稀释液稀释，计算时检测结果乘以稀释倍数）；
- 立即每孔加入配好的 ST/5-HT 生物素化抗体工作液 50ul；
- 利用封板膜封好，37℃反应 45min；
- 甩去酶标板中的液体，每孔加洗涤液 350ul，浸泡 1-2 分钟，吸去或甩掉酶标板内的液体，重复 3 次，最后一次利用吸水纸拍干；
- 每孔加酶结合物工作液 100ul，加上封板膜，37℃温育 30 分钟；
- 甩去酶标板中的液体，重复步骤 6，洗涤 5 次，最后一次利用吸水纸拍干；
- 按 90ul / 孔加入 TMB 显色液，37℃避光反应 7-30min（根据实验室具体环境确认最佳显色时间，可初步根据标准品梯度颜色（蓝色）呈现线性梯度来判断）
- 按 50ul / 孔加入 TMB 终止液，孔内液体颜色由蓝色变为黄色；
- 用酶标仪在 450nm 光波处检测 OD 值；
- 计算时，以标准品浓度梯度作为 X 轴，OD 值（减去空白孔值）作为 Y 轴，制作标准曲线，计算出样品值（减去空白孔值）对应的浓度值。

注意：在样本加入前处理时，涉及的样本稀释比例，在此基础上需要按照对应倍数换算回来。

上海磐超生物科技有限公司

上海市闵行区沈杜公路 3872 号孵源发展 F 楼 C401 室 电话: 021-31550304

邮箱: techsupport@pc-biotech.com

网址: www.pc-biotech.com