

## 大鼠总胆红素 (TBIL) 酶联免疫分析试剂盒使用说明书

本试剂盒仅供研究使用。

**检测范围:** 0.5  $\mu\text{mol/L}$  - 12  $\mu\text{mol/L}$

### 使用目的:

本试剂盒用于测定大鼠血清、血浆及相关液体样本中总胆红素 (TBIL) 含量。

### 实验原理

本试剂盒应用双抗体夹心法测定标本中大鼠总胆红素 (TBIL) 水平。用纯化的大鼠总胆红素 (TBIL) 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总胆红素 (TBIL)，再与 HRP 标记的总胆红素 (TBIL) 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总胆红素 (TBIL) 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大鼠总胆红素 (TBIL) 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 (24 $\mu\text{mol/L}$ )	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°C 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 (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。

网址: [www.hfwanwu.com](http://www.hfwanwu.com)

电话: 400-1016-218

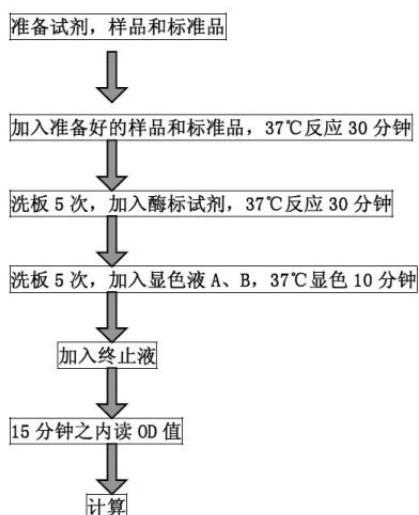
地址: 合肥市蜀山区长江西路 248 号 11 层



12 $\mu\text{mol/L}$	5 号标准品	150 $\mu\text{l}$ 的原倍标准品加入 150 $\mu\text{l}$ 标准品稀释液
6 $\mu\text{mol/L}$	4 号标准品	150 $\mu\text{l}$ 的 5 号标准品加入 150 $\mu\text{l}$ 标准品稀释液
3 $\mu\text{mol/L}$	3 号标准品	150 $\mu\text{l}$ 的 4 号标准品加入 150 $\mu\text{l}$ 标准品稀释液
1.5 $\mu\text{mol/L}$	2 号标准品	150 $\mu\text{l}$ 的 3 号标准品加入 150 $\mu\text{l}$ 标准品稀释液
0.75 $\mu\text{mol/L}$	1 号标准品	150 $\mu\text{l}$ 的 2 号标准品加入 150 $\mu\text{l}$ 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 50  $\mu\text{l}$ ，待测样品孔中先加样品稀释液 40  $\mu\text{l}$ ，然后再加待测样品 10  $\mu\text{l}$ （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°C 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 50  $\mu\text{l}$ ，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 A50  $\mu\text{l}$ ，再加入显色剂 B50  $\mu\text{l}$ ，轻轻震荡混匀，37°C 避光显色 10 分钟。
10. 终止：每孔加终止液 50  $\mu\text{l}$ ，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。

### 操作程序总结：



## 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 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。

## 保存条件及有效期

1. 试剂盒保存: ; 2-8°C。
2. 有效期: 6 个月

