



EK-Bioscience

Shanghai EK-Bioscience Biotechnology Co., Ltd.

This kit is for in vitro research use, not for clinical diagnosis!

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

人抗凝血素（凝血酶原）抗体 IgM 酶联免疫分析试剂盒

CAS. NO: EK-H13246

声明：尊敬的客户，感谢您选用本公司的产品。本试剂盒用于测定人血清、血浆及相关液体样本中抗凝血素（凝血酶原）抗体 IgM 表达。使用前请仔细阅读说明书并检查试剂组分！如有疑问，请及时联系我们。

试剂盒组成：

中文名称	English name	96T/48T 含量	保存
ELISA 酶标板(可拆卸)	Microelisa stripplate	8×12 / 8×6 *	2-8℃
阳性对照	Positive control	1 瓶 0.5ml *	2-8℃
阴性对照	Negative control	1 瓶 0.5ml *	2-8℃
检测抗原-HRP	Detection of antigen-HRP	1 瓶 10 ml/5ml *	2-8℃
样品稀释液	Sample diluent	1 瓶 6 ml/3ml *	2-8℃
显色剂 A 液	Chromogen Solution A	1 瓶 6 ml/3ml *	2-8℃
显色剂 B 液	Chromogen Solution B	1 瓶 6 ml/3ml *	2-8℃
终止液	Stop Solution	1 瓶 6 ml/3ml *	2-8℃
浓缩洗涤液	wash solution	1 瓶 20ml *	2-8℃
说明书	Instruction	1 份 *	
封板膜	Closure plate membrane	2 片 *	
密封袋	Sealed bags	1 个 *	

实验原理

试剂盒采用双抗一步夹心法酶联免疫吸附试验（ELISA）。往预先包被抗凝血素（凝血酶原）抗原的包被微孔中，依次加入标本、HRP 标记的检测抗原，经过温育并彻底洗涤。用底物 TMB 显色，TMB 在过氧化物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。用酶标仪在 450nm 波长下测定吸光度（OD 值），与 CUTOFF 值相比较，从而判定标本中抗凝血素（凝血酶原）抗体 IgM 的存在与否。

标本要求

1. **血清:** 室温血液自然凝固 10-20 分钟后, 离心 10 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。
2. **血浆:** 应根据标本的要求选择 EDTA、柠檬酸钠或肝素作为抗凝剂, 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、脑脊液参照此实行。
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。
5. **培养细胞:** 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。通过反复冻融或加入组织蛋白萃取试剂, 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。
6. **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), 或组织蛋白萃取试剂, 用手工或匀浆器将标本匀浆化。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。
7. 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
8. 不能检测含 NaN₃ 的样品, 因 NaN₃ 抑制辣根过氧化物酶的 (HRP) 活性。

试验所需自备物品:

1. 酶标仪(450nm 波长滤光片)
2. 高精度移液器, EP 管及一次性吸头
3. 37℃ 恒温箱, 双蒸水或去离子水

操作步骤

1. 从室温平衡 20min 后的铝箔袋中取出所需板条, 剩余板条用自封袋密封放回 4℃。
2. 设置阴、阳性对照孔和样本孔, 阴、阳性对照孔中加入阴性对照、阳性对照各 50 μL;
3. 待测样本孔先加待测样本 10 μL, 再加样本稀释液 40 μL;
4. 随后阴、阳性对照孔和样本孔中每孔加入辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的检测抗原 100 μL, 用封板膜封住反应孔, 37℃ 水浴锅或恒温箱温育 60min。
5. 弃去液体, 吸水纸上拍干, 每孔加满洗涤液, 静置 1min, 甩去洗涤液, 吸水纸上拍干, 如此重复洗板 5 次 (也可用洗板机洗板)。
6. 每孔加入底物 A、B 各 50 μL, 37℃ 避光孵育 15min。
7. 每孔加入终止液 50 μL, 15min 内, 在 450nm 波长处测定各孔的 OD 值。

结果判断

1. 试验有效性: 阳性对照孔 OD 值平均值 ≥ 1.00 ;
阴性对照孔 OD 值平均值 ≤ 0.15 。
2. 临界值 (Cut off) 计算: 临界值 = 阴性对照孔平均值 + 0.15
3. 阴性判断: 样品 OD 值 < 临界值 (Cut off), 样品为阴性
4. 阳性判断: 样品 OD 值 > 临界值 (Cut off), 样品为阳性

试剂盒性能

1. 准确性：阳性对照孔 OD 值平均值 ≥ 1.00 ；阴性对照孔 OD 值平均值 ≤ 0.15 ，说明试验结果有效。
2. 特异性：不与其它可溶性结构类似物交叉反应。
3. 重复性：板内、板间变异系数均小于 15%。

注意事项

1. 操作严格按照说明书进行，本试剂不同批号组分不得混用。
2. 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。底物请避光保存。
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. 封板膜只限一次性使用，以避免交叉污染。
6. 所有样品，洗涤液和各种废弃物都应按传染物处理。

声明

1. 限于现有条件及科学技术水平，尚不能对所有原料进行全面的鉴定分析，本产品可能存在一定的质量技术风险。
2. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及当时的实验环境密切相关，请务必准备充足的待测样品。
3. 只有全部使用试剂盒内的试剂才能保证检测效果，不能混用其他制造商的产品。只有严格遵守本实验说明才会得到最佳的检测结果。
4. 有效期：6 个月。

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

销售部电话	TEL	021-61840799
电子邮箱（销售）	E-mail(sale)	shmysw06@163.com
电子邮箱（技术）	E-mail(technician)	shmysw08@163.com
QQ 客服	QQ customer service	2712765620
网址	http://	www.elisakits.cn

联系时请提供产品货号，以便我们更高效地为您服务。 谢谢！

This kit is for in vitro research use, not for clinical diagnosis!