**小鼠骨成型蛋白9ELISA检测试剂盒说明书**

小鼠骨成型蛋白9ELISA检测试剂盒的优势：

1、专业的elisa试剂盒生产企业(Elisa检测试剂盒厂家)

2、抗体－－－－高效、灵敏、特异

3、规范包被操作－－－－吸附均匀，吸附性好，空白值低，孔底透明度高

4、先进的优化方案－－－－重复性高，可靠性强

5、购买本公司的ELISA试剂盒，免费代检测，北京地区免费上门取样

6、技术服务要求：专业，规范，高效

7、适用于血浆、血清、组织匀浆液、细胞培养上清液、尿液等多种类型的样本

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。

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NaN3的样品，因NaN3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di一、第二孔中分别加标准品100μl，然后在di一、第二孔中加标准品稀释液50μl，混匀；然后从di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50ul，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180 ng/L，120 ng/L ，60 ng/L，30 ng/，15 ng/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. 温育：用封板膜封板后置37℃温育30分钟。

4. 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。

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3。

8. 洗涤：操作同5。

9. 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15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：以空白空调零，450nm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。

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zui好控制在5 分钟内，如标本数量多，推荐使用排枪加样。

4. 封板膜只限一次性使用，以避免交叉污染。

5. 底物请避光保存。

6. 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.

7. 所有样品，洗涤液和各种废弃物都应按传染物处理。

8. 本试剂不同批号组分不得混用。

1. 如需代测或者样本暂时不测定，可立即低温冻存，温度越低越好，中间避免反复冻融，-20℃以下可保存三个月,-70℃以下可保存六个月。
2. 试剂使用须知：
3. （1）请参照相关法规、文献、MSDS等信息，理解并掌握好试剂的特性，再进行安全操作。
4. （2）通常购买试剂时一定要想到一次性用完。若估算不足有剩余的话，更加注意其他保管和管理。
5. （3）万一试剂操作者并非专业技术人员。必须在专业人士的指导监督下进行操作。对于使用后的废弃物，不要或者旧的试剂，应按照相关法律法规正当处理。
6. （4）购买后，请务必确认标签上的注意事项；做好预防颠倒，摔坏的措施和管理体制；在使用前再次确认标签上的注意事项，做好必要的安全对策；对没有标明其危害特性、有害特性的，也要慎重地进行操作；必须带好防护用具，小心翼翼进行操作。