# XhoI ELISA Kit

REF: EG24602S

## 储运条件

2~8℃，试剂盒未开封状态，可于 2~8℃稳定保存 12 个月，注意避光。

## 产品组成

| 组分 | 组分 ( 中文 ) | 规格 |
|---|---|---|
| XhoI Standard | XhoI 标准品 | 10 μg, 2 Vial |
| XhoI Detection Antibody (HRP labeled) | XhoI 检测抗体（HRP 标记） | 12 ml, 1 Vial |
| TMB Substrate | TMB 底物 | 12 ml, 1 Vial |
| Stop Solution | 终止液 | 12 ml, 1 Vial |
| Sample Diluent | 样品稀释液 | 50 ml, 1 Vial |
| Wash Buffer (20×) | 漂洗液 | 50 ml, 1 Vial |
| Microtiter Plate (Coated) | 预包被酶标板 | 96 孔 , 1 Plate |

## 产品简介

本品采用双抗夹心法检测样本中 XhoI 含量。将 XhoI 特异性抗体预包被在微孔板上，使用时将标准品与待测样本分别加入到已包被特异性抗体的反应孔内，样本中的 XhoI 会与微孔板中的抗体结合，孵育后洗涤以去除微孔板内未结合的物质，加入 XhoI 检测抗体 (HRP 标记 )，形成抗体 - 抗原 -HRP 标记抗体的复合物，加入 TMB 进行孵育显色，显色程度与 XhoI 浓度成比例关系，通过测定 XhoI 标准品的显色来判断样本中 XhoI 残留程度。

检测范围：0.125~4 ng/ml
定量限：0.125 ng/ml
检测限：0.021 ng/ml

## 器材

酶标仪、微孔板恒温振荡器、涡旋振荡器、移液器、封板膜等。

## 试剂配制

1. 平衡：将所需试剂转移到室温（25 ± 3℃）平衡至少 30 min；确定测定运行的孔数，取出所需的酶标条，其它放回装有干燥剂包的铝箔袋中，然后重新密封并置于 2~8℃保存。

2. 1× 漂洗液配制：根据本次试验所需洗板液体积，量取漂洗液（20×）适量，用去离子水按照 1:20 体积比稀释，混匀后备用。

3. 标准品溶液配制（示例）：

取 1 支 XhoI 标准品，准确加入样品稀释液 1 ml，涡旋使混匀，终浓度为 10000 ng/ml，作为标准品母液；配制好的标准品母液应置 2~8℃暂存，24 小时内使用，如果长时间不用，需分装后置 -20℃保存，3 个月内使用。

| 序号 | 标准液浓度（ng/ml） | 标准液体积（μl） | 稀释液体积（μl） | 总体积（μl） | 终浓度（ng/ml） | 剩余体积（μl） |
|---|---|---|---|---|---|---|
| StA | 10000 | 20 | 1800 | 2000 | 100 | 1980 |
| St7 | 100 | 20 | 480 | 500 | 4 | 250 |
| St6 | 4 | 250 | 250 | 500 | 2 | 250 |
| St5 | 2 | 250 | 250 | 500 | 1 | 250 |
| St4 | 1 | 250 | 250 | 500 | 0.5 | 250 |
| St3 | 0.5 | 250 | 250 | 500 | 0.25 | 250 |
| St2 | 0.25 | 250 | 250 | 500 | 0.125 | 500 |
| St1(Blank) | / | / | 300 | 300 | 0 | 300 |

江苏愚公生物科技有限公司 / 江苏百时美生物科技有限公司
Yugong Biotech Co., Ltd. / BestEnzymes Biotech Co., Ltd
Tel: 0518-8558 6628 • E-mail:support@best-enzymes.com • www.best-enzymes.com
最终解释权所有 © 江苏愚公生物科技有限公司，保留一切权利
ISO 13485 高新技术企业 愚公生物微信公众号 愚公生物科研小助手 愚公生物微信视频号

## 实验流程

1. 混匀：临用前将平衡至室温的试剂轻轻混匀。

2. 加样：分别加入 100 µl 标准品溶液 (St1~St7) 或待测样品至相应孔中，加盖或封板膜封板后在室温（25 ± 3℃）条件下 400~500 rpm 孵育 1 h。

3. 洗涤：甩掉孔内液体，每孔加入至少 1× 漂洗液 350 µl（可用多通道移液器或者洗瓶），再甩去孔内液体后于无尘纸上轻拍至拍干。重复 3 次。（注意：在加入 XhoI 检测抗体溶液前勿使板孔长时间过分干燥。洗涤不当可能使复孔间 CV 值偏大，信号偏高或偏低）。

4. 标记：每孔加入 XhoI 检测抗体（HRP 标记）溶液 100 µl，加盖或封板膜封板后在室温（25 ± 3℃）条件下 400~500 rpm 孵育 30 min。

5. 洗涤：甩掉孔内液体，每孔加入至少 1× 漂洗液 350 µl（可用多通道移液器或者洗瓶），再甩去孔内液体后于无尘纸上轻拍至拍干。重复 3 次。（注意：在加入 TMB 底物前勿使板孔长时间过分干燥）

6. 显色：每孔加入 TMB 底物 100 µl，室温（25 ± 3℃）避光显色 20 min。

7. 终止：每孔加入终止液 100 µl，轻轻敲击孔板使混匀，终止反应。

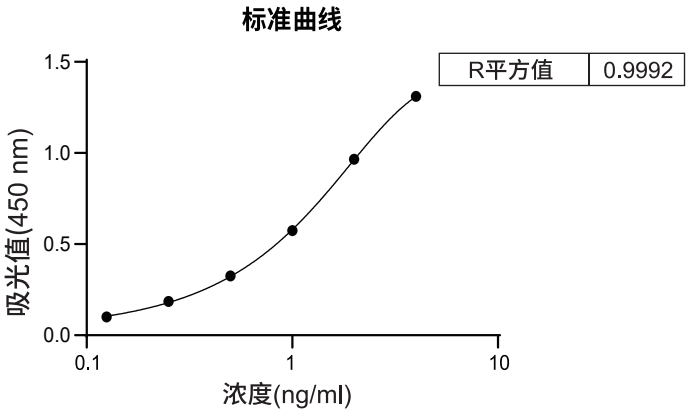
8. 测定：加入终止液后 10 min 内，在 450 nm 波长处读取吸光值。

## 结果计算

本品建议采用浓度取 10 为底的对数后采用四参数 Logistic 模型拟合方式进行拟合计算。

表 1 典型标准曲线数据表

| 标准品浓度（ng/ml） | 吸光值 | | |
|---|---|---|---|
| | 测定 1 | 测定 2 | 均值 |
| 4 | 1.432 | 1.410 | 1.421 |
| 2 | 1.056 | 1.087 | 1.071 |
| 1 | 0.694 | 0.683 | 0.689 |
| 0.5 | 0.439 | 0.435 | 0.437 |
| 0.25 | 0.298 | 0.289 | 0.293 |
| 0.125 | 0.202 | 0.218 | 0.210 |
| 0 | 0.113 | 0.110 | 0.111 |




典型标准曲线图谱（四参数 Logistic 模型）

## 性能

检测限：0.021 ng/ml。将 20 个空白对照的平均吸光值加上 2 个标准偏差后代入标曲确定。

定量限：0.125 ng/ml。确保变异系数 (n=6) 在 20% 以内的最低浓度。

线性：测定不同浓度的标准品溶液，并绘制曲线，$R^2$≥0.98。

重复性：三个已知浓度样品重复测试 20 次，评估重复性。

中间精密度：三个已知浓度样品不同时间不同人测试 3 次，评估中间精密度。

| 名称 | 重复性（n=20） | | | 中间精密度（n=3） | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 低浓度 | 中间浓度 | 高浓度 | 低浓度 | 中间浓度 | 高浓度 |
| 均值（ng/ml） | 0.46 | 1.99 | 3.05 | 0.53 | 2.09 | 3.31 |
| SD | 0.017 | 0.079 | 0.259 | 0.025 | 0.049 | 0.255 |
| CV（%） | 3.7 | 4.0 | 8.5 | 4.7 | 2.3 | 7.7 |

回收率：评估了在相关基质中在整个测定范围内加标至不同水平的 XhoI 的回收率。

| 平均回收率（%）（n=3） | 回收率范围（%） |
|---|---|
| 105.9 | 96.2 ~ 117.6 |

## 注意事项

1. 本产品仅用于科研，不能用于临床诊断或治疗。

2. 试剂应该按照标签标明的条件进行储存，试剂和待测样本使用前应平衡至室温。

3. 预包被酶标板使用前，应平衡至室温后再打开包装袋取用，剩余的板条应立即放回包装中重新密封，置于 2~8℃保存。剩余试剂也应重新密封后按标签标明的条件进行储存。

4. XhoI 标准品、XhoI 检测抗体（HRP 标记）溶液应混匀后再使用。

5. 洗涤过程中板孔残留的液体应在洁净的无尘纸上拍干，拍干后的板孔不宜长时间过分干燥，否则不恰当的洗涤过程会造成复孔的 CV 值偏高或者空白（0 ng/ml）吸光值偏高，影响结果准确性。

6. TMB 底物应该是无色透明液体，如果显示淡蓝色，证明该溶液已经被污染，不适合进行后续分析使用。

7. 样本处在极端 pH 值（<5.0 或 >8.5），或者含高盐、高聚糖、高尿素、高有机溶剂和高的去污剂的溶液中，均有可能导致较低回收率。

8. 由于生物样本基质的复杂性，建议每次试验加阳性质控试验样品，确保试验的准确性，并采用复孔进行试验。

## 安全须知

1. 终止液为酸性溶液，使用时应注意安全。

2. 操作者应穿戴个人防护装备，如实验服，手套，口罩和护目镜等。

江苏愚公生物科技有限公司 / 江苏百时美生物科技有限公司
Yugong Biotech Co., Ltd. / BestEnzymes Biotech Co., Ltd
Tel: 0518-8558 6628 • E-mail:support@best-enzymes.com • www.best-enzymes.com
最终解释权所有 © 江苏愚公生物科技有限公司，保留一切权利
ISO 13485 高新技术企业
愚公生物微信公众号 愚公生物科研小助手 愚公生物微信视频号