EliKine™ 甲状腺素（T4）ELISA 定量试剂盒

Cat #：KTE0007　　Size: 48 T/96 T

	甲状腺素（T4）ELISA 定量试剂盒		
REF	**货号：**KTE0007	LOT	**批号：**见产品标签
	检测范围：20 ng/mL-320 ng/mL		**灵敏度：**10 ng/mL
	精密度：板内变异系数<15%，板间变异系数<15%		**回收率：**范围从 85%到 115%，平均回收率 100%
	特异性：检测具有高灵敏度和优良的特异性。未观察到和 T4 类似物之间的显着交叉反应或干扰。		
	适用样本：血清、血浆		
	保质期：4℃，避光保存 12 个月		

原理

T4是诊断甲状腺功能减退和甲状腺功能亢进的有用标志物。 甲状腺功能减退患者的T4水平降低，而甲亢患者的T4水平升高。 血液中甲状腺激素的主要形式是甲状腺素（T4），其半衰期比T3长。 在人类中，释放到血液中的T4与T3的比例在14:1和20:1之间。 T4在细胞内通过脱碘酶（5'-碘酶）转化为T3（T3活性比T4强3到4倍）。这些通过脱羧和脱碘进一步加工以产生碘甲状腺素（T1a）和甲状腺素（T0a）。脱碘酶的所有三种同工型都是含硒酶，因此膳食硒对于T3的产生至关重要。1915 年，爱德华·卡尔文·肯德尔(Edward Calvin Kendall) 成功地分离出了甲状腺素。EliKine™ 甲状腺素（T4） ELISA定量试剂盒采用竞争性抑制酶免疫分析技术。本试剂盒提供的酶标板已预先包被T4特异性抗体。将标准品或样品以及生物素偶联的T4添加到适当的板孔中。标准品或样本中的T4和生物素标记的T4与板上预先包被的T4特异性抗体之间发生竞争性抑制反应。样品中的T4含量越多，与生物素偶联T4结合的抗体就越少。 洗涤后，将Avidin-HRP 偶联物添加到孔中。 将底物溶液添加到孔中，颜色与样品中T4的量相反。 停止显色并测量颜色的强度。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
T4 Standard	0.5 mL×5	1 mL×5	4℃
Avidin-HRP	3 mL	6 mL	4℃
Biotin Conjugated T4	3 mL	6 mL	4℃
HRP Substrate A	3.5 mL	7 mL	4℃，避光保存
HRP Substrate B	3.5 mL	7 mL	4℃，避光保存
Stop Solution	3.5 mL	7 mL	4℃
Wash Buffer (20×)	7.5 mL	15 mL	4℃

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

T4 Microplate	48 wells	96 wells	4℃
Plate Covers	1	2	室温

备注：标准品浓度为：Std_1：20 ng/mL；Std_2：40 ng/mL；Std_3：80 ng/mL；Std_4：160 ng/mL；Std_5：320 ng/mL

自备耗材

- 酶标仪（能测 450 nm 处的吸光度）
- 多通道移液器或自动洗板机
- 恒温箱、低温离心机
- 可调节式移液枪及枪头
- 去离子水

试剂准备

注意：提前 20 min 从冰箱中取出试剂盒，平衡至室温。如果浓缩试剂有结晶析出，轻轻加热直至完全溶解。

1×Wash Buffer:用去离子水 1：20 稀释 Wash Buffer (20×)得到 1×Wash Buffer，4℃保存。

样本制备

1. 血清：使用血清分离管，让样品在室温下凝结 30 min，然后 1,000 g 离心 15 min。 取上层血清立即测定或分装-20℃保存，避免反复冻融。
2. 血浆：使用 EDTA、肝素或柠檬酸盐作为抗凝剂收集血浆。 在收集后 30 min 内 1,000 g 离心 15 min。立即测定或分装-20℃保存，避免反复冻融。

注意：不要使用严重溶血或脂血的标本。 如果样品要在 24 h 内使用，则可以将其储存在 2 至 8℃。 避免反复冻融。测定前，应将冷冻样品缓慢升至室温并轻轻混合。

实验步骤

1. 从板框上取下多余的板条，将它们放回装有干燥剂包的铝箔袋中，然后重新密封。
2. 每孔加入 50 µL T4 Standard 或样品。建议所有标准品和样品做复孔。设置一个不加任何溶液空白孔。
3. 每孔加入 50 µL Biotin Conjugated T4（空白孔不加）。混匀，给酶标板覆膜，37℃孵育 1 h。
4. 除去每孔中的液体并洗涤，重复该过程总共洗涤三次。使用多通道移液器或自动清洗机每孔加入 250 µL 1×Wash Buffer 进行洗涤，然后静置 10 s。完全去除液体对于获得良好性能至关重要。最后一次洗涤后，倒置酶标板并用干净的纸巾吸干以除去任何剩余的 1×Wash Buffer。
5. 每孔加入 50 µL Avidin-HRP（空白孔不加）。混匀，给酶标板覆膜，37℃孵育 30min。
6. 按照步骤 4 重复洗涤过程。
7. 每孔加入 50 µL HRP Substrate A 和 50 µL HRP Substrate B，混匀，给酶标板覆膜，37℃避光孵育 15min，远离气流和其他温度波动。
8. 每孔加入 50 µL Stop Solution，Stop Solution 应按照与 HRP Substrate 相同的顺序加到板中。孔中的颜色应从蓝色变为黄色。如果孔中的颜色为绿色或颜色变化不均匀，请轻轻敲击板以确保彻底混合。
9. 30 min 内测定每孔 450 nm 处的吸光值。

结果计算

1. 计算每个标准品和样品的复孔平均 OD 值，
2. 标准曲线的绘制：以标准溶液浓度为 x 轴，各标准品的平均吸光度为 y 轴，绘制标准曲线。可以使用计算机软件来创建标准曲线。

结果展示

典型标准曲线（$R^2 \geqslant 0.99$）

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

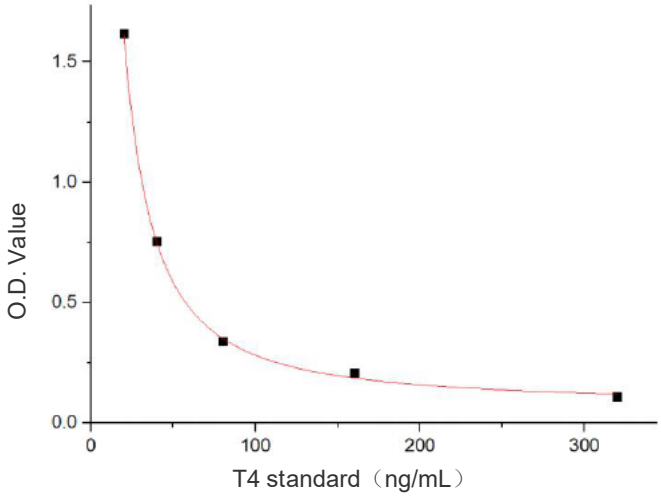


Figure1. 96 孔板分析的 T4 标准曲线。数据和曲线仅供参考，实验者需根据自己的实验建立标准曲线

注意事项

1. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
2. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。
3. 为确保准确的结果，在孵育步骤中必须正确粘附板贴。
4. Stop Solution 有一定的腐蚀性。 操作时请做好防护措施。

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTE0004	EliKine™ 游离三碘甲状腺原氨酸（fT3）ELISA 定量试剂盒
KTE0005	EliKine™ 游离甲状腺素（fT4）ELISA 定量试剂盒
KTE0006	EliKine™ 三碘甲状腺原氨酸（T3）ELISA 定量试剂盒

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.