EliKine™ 游离甲状腺素（fT4）ELISA定量试剂盒

Cat #：KTE0005　　Size: 48 T/96 T

	游离甲状腺素（fT4）ELISA 定量试剂盒		
REF	**货号：** KTE0005	LOT	**批号：**见产品标签
	检测范围：4 pmol/L- 64 pmol/L		**灵敏度：**4 pmol/L
	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 fT4 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

血液循环中超过99%的三碘甲状腺原氨酸（T4）与载体蛋白-甲状腺素结合球蛋白（TBG）结合。然而，只有T4的游离（未结合）部分能发挥生理功能。此外，载体蛋白的浓度在许多临床条件下发生改变，例如怀孕。在正常甲状腺功能中，随着载体蛋白浓度的变化，总T4水平发生变化，而游离 T4浓度保持不变。因此，游离T4浓度的测量与临床状态的相关性比总T4水平更可靠。妊娠、口服避孕药和雌激素治疗导致总T4水平升高，而游离T4浓度基本保持不变。EliKine™ 游离甲状腺素（fT4）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fT4特异性抗体。将标准品或样品以及生物素偶联的fT4添加到适当的板孔中。标准品或样本中的fT4和生物素标记的fT4与板上预先包被的fT4特异性抗体之间发生竞争性抑制反应。样品中的fT4含量越多，与生物素偶联fT4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fT4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	
fT4 Standard	0.5 mL×5	1 mL×5	4℃
Avidin-HRP	3 mL	6 mL	4℃
Biotin Conjugated fT4	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.

fT4 Microplate	48 wells	96 wells	4℃
Plate Covers	1	2	室温

备注：标准品浓度为：Std_1：4 pmol/L；Std_2：8 pmol/L；Std_3：16 pmol/L；Std_4：32 pmol/L；Std_5：64 pmol/L

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 fT4 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 fT4（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.

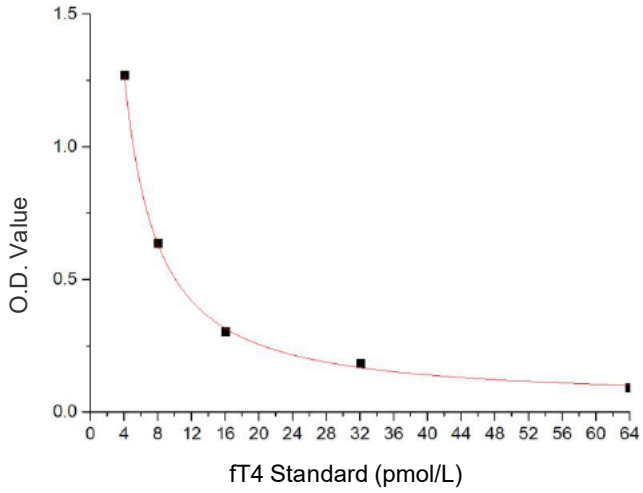


Figure1. 96 孔板分析的 fT4 标准曲线。数据和曲线仅供参考，实验者需根据自己的实验建立标准曲线

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
KTE0006	EliKine™ 三碘甲状腺原氨酸（T3）ELISA 定量试剂盒
KTE0007	EliKine™ 甲状腺素（T4）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.