本试剂盒只能用于科学研究，不得用于医学诊断

乙酰胆碱（ACH）

ELISA 检测试剂盒

使用说明书

检测原理

试剂盒采用竞争法酶联免疫吸附试验（ELISA）。往预先包被乙酰胆碱（ACH）抗原的包被微孔中，依次加入标本、标准品、HRP标记的抗乙酰胆碱抗体，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。颜色的深浅和样品中的乙酰胆碱（ACH）呈负相关。用酶标仪在450nm 波长下测定吸光度（OD 值），计算样品浓度。

样品收集、处理及保存方法

1. 样本不能含叠氮钠（NaN3），因为叠氮钠（NaN3）是辣根过氧化物酶（HRP）的抑制剂。

2. 标本采集后尽早进行提取，提取按相关文献进行。

3. 植物萃取液或其它相关样本：请1000 x g离心20分钟，取上清即可检测。花生样本处理方法：样本去壳粉碎，称取5g于100ml具塞三角瓶中，加入25ml 60%甲醇谁溶液和20ml正乙烷振荡10min，滤纸过滤，弃去1/4初滤液，收集其余滤液于125ml分液漏斗中，静置分层后放出下层60%甲醇水提溶液。现提取液2ml，加入2ml超纯水稀释，使提取液甲醇浓度为30%，此为样品代测液。

4. 保存：如果样本收集后不及时检测，请按一次用量分装，冻存于-20℃，避免反复冻融，在室温下解冻并确保样品均匀地充分解冻。

自备物品

1. 酶标仪（450nm）

2. 高精度加样器及枪头：0.5-10uL、2-20uL、20-200uL、200-1000uL

3. 37℃恒温箱

操作注意事项

1. 试剂盒保存在 2-8℃，使用前室温平衡 20 分钟。从冰箱取出的浓缩洗涤液会有结晶，这属于正常现象，水浴加热使结晶完全溶解

后再使用。

2. 实验中不用的板条应立即放回自封袋中，密封（低温干燥）保存。

3. 按照说明书操作时样本已经稀释 5 倍，最终结果乘以 5 才是样本实际浓度。

4. 严格按照说明书中标明的时间、加液量及顺序进行温育操作。

5. 所有液体组分使用前充分摇匀。

试剂盒组成

名称	96 孔配置	48 孔配置	备注
微孔酶标板	12 孔×8 条	12 孔×4 条	无
标准品	0.3mL*6 管	0.3mL*6 管	无
样本稀释液	6mL	3mL	无
竞争抗原-HRP	6mL	3mL	无
20×洗涤缓冲液	25mL	15mL	按说明书进行稀释
底物 A	6mL	3mL	无
底物 B	6mL	3mL	无
终止液	6mL	3mL	无
封板膜	2 张	2 张	无
说明书	1 份	1 份	无
自封袋	1 个	1 个	无

注：标准品（S0-S5）浓度依次为：0、5、10、20、40、80 ng/mL

试剂的准备

20×洗涤缓冲液的稀释：蒸馏水按 1：20 稀释，即 1 份的 20×洗涤缓冲液加 19 份的蒸馏水。

洗板方法

1. 手工洗板：甩尽孔内液体，每孔加满洗涤液，静置 1min 后甩尽孔内液体，在吸水纸上拍干，如此洗板 5 次。

2. 自动洗板机：每孔注入洗液 350μL，浸泡 1min，洗板 5 次。

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. 设置标准品孔和样本孔，标准品孔各加不同浓度的标准品 50μL；

3. 样本孔先加待测样本 10μL，再加样本稀释液 40μL；空白孔不加。

4. 除空白孔外，标准品孔和样本孔中每孔加入辣根过氧化物酶（HRP）标记的竞争抗原 50μL，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 50μL，37℃避光孵育 15min。

7. 每孔加入终止液 50μL，15min 内，在 450nm 波长处测定各孔的 OD 值。

结果判断

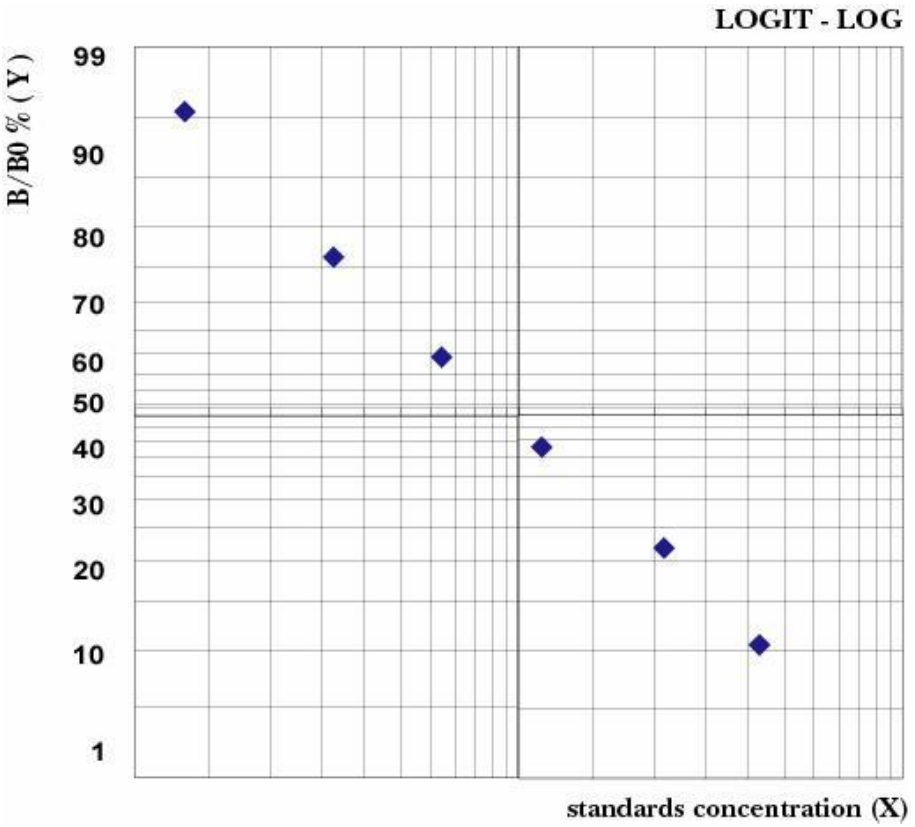
1. 15分钟内在波长450nm的酶标仪上读取各孔的OD值；

2. 以浓度为横坐标，平均 OD450 值为纵坐标，可使用四参数方程 4PL 绘制标准曲线。也可使用酶标仪自带的作图软件(如 Thermo FC 型号酶标仪 SkanIt RE 软件)绘制标准曲线。

3、 将样本的 OD450 值代入标准曲线，即可计算得到样品的浓度值。 如果样品被稀释过，则需乘以相应的稀释倍数。

4. 敏感度：1.0 ng/ml

5. 图例



试剂盒性能

1. 准确性：标准品线性回归与预期浓度相关系数 R 值，大于等于 0.9900。

2. 灵敏度：最低检测浓度小于 0.25ng/mL。

3. 检测范围：0.25 - 80 ng/mL。

4. 特异性：不与其它可溶性结构类似物交叉反应。

5. 重复性：板内、板间变异系数均小于 15%。

6. 贮藏：2-8℃，避光防潮保存。

7. 有效期：6 个月

免责声明

1. 试剂盒仅供研究使用，不得用于临床实验或人体实验，否则所产生的一切后果，由实验者承担，本公司概不负责。

2. 严格按照说明书操作，实验者违反说明书操作，后果由实验者承担。