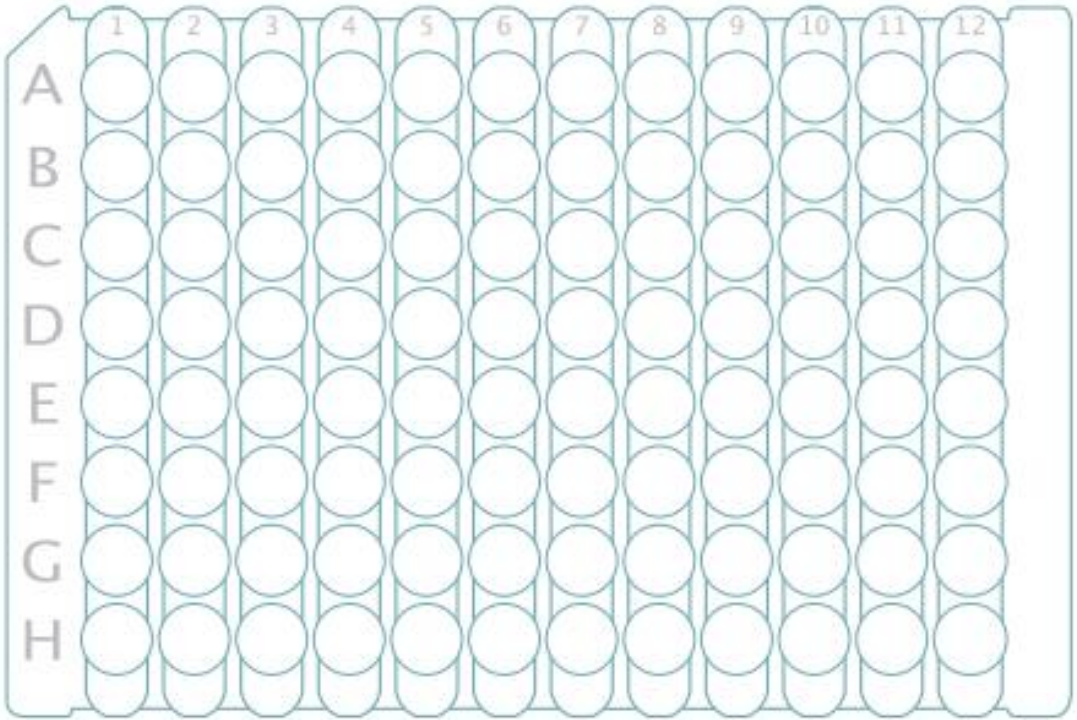
大鼠黄体生成素（LH）
酶联免疫吸附测定试剂盒

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

使
用
说
明
书


1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
A
B
C
D
E
F
G
H

- **本试剂盒用于体外定量检测血清、血浆、组织匀浆及相关液体样本中大鼠黄体生成素（LH）的含量。**
- **有效期：6 个月**
- **保存条件：2-8℃**

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
生物素标记抗体	6mL	3mL	无
样本稀释液	6mL	3mL	无
检测抗体-HRP	10mL	5mL	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

备注:

1. （96T/48T）打开包装后请及时检查所有物品是否齐全。
2. 标准品浓度依次为：80、40、20、10、5、0 mIU/ml
3. 经过大量正常标本检验，标本的正常浓度值均在试剂盒提供的检测范围内，实验过程中直接取 50μL 样本上样即可。当有部分样本值超过最大标准品浓度时，可用样本稀释液将标本进行适当稀释后再进行实验。

检测前准备工作：

1. 请提前 20 分钟从冰箱中取出试剂盒，平衡至室温。
2. 从冰箱中取出的浓缩洗涤液可能有结晶，属于正常现象；放置室温，轻摇均匀，待结晶完全溶解后再配置洗涤液。可将 20ml 浓缩洗涤液用蒸馏水或去离子水稀释配置成 400ml 工作浓度的洗涤液，未用完的放回 4℃
3. 20×洗涤缓冲液的稀释：蒸馏水按 1：20 稀释，即 1 份 20×洗涤缓冲液加 19 份蒸馏水。。

实验原理：

试剂盒采用双抗体二步夹心法酶联免疫吸附试验（ELISA）。往预先包被大鼠黄体生成素(LH)捕获抗体包被微孔中，依次加入标本、标准品孵育，加入生物化抗体进行抗体生物素化，经过温育并彻底后加入 HRP 标记的检测抗体，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大鼠黄体生成素（LH）呈正相关。用酶标仪在 450nm 波长下测定吸光度（OD 值），计算样品含量。

实验所需自备试验器材：

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
4. 蒸馏水或去离子水

样本处理及要求：

1. **血清：**将收集于血清分离管的全血标本在室温放置 2 小时或 4℃过夜，然后 1000×g 离心 20 分钟，取上清即可，或将上清置于-20℃或-80℃保存，但应避免反复冻融。
2. **血浆：**用 EDTA 或肝素作为抗凝剂采集标本，并将标本在采集后的 30 分钟内于 2-8℃ 1000×g 离心 15 分钟，取上清即可检测，或将上清置于-20℃或-80℃保存，但应避免反复冻融。
3. **组织匀浆：**用预冷的 PBS (0.01M, pH=7.4)冲洗组织，去除残留血液（匀浆中裂解的红细胞会影响测量结果），称重后将组织剪碎。将剪碎的组织与对应体积的 PBS（一般按 1:9 的重量体积比，比如 1g 的组织样品对应 9mL 的 PBS，具体体积可根据实验需要适当调整，并做好记录。推荐在 PBS 中加入蛋白酶抑制剂）加入玻璃匀浆器中，于冰上充分研磨。为了进一步裂解组织细胞，可以对匀浆液进行超声破碎，或反复冻融。最后将匀浆液于 5000×g 离心 5~10 分钟，取上清检测。
4. **细胞培养物上清：**请 1000×g 离心 20 分钟，取上清即可检测，或将上清置于-20℃或-80℃保存，但应避免反复冻融。
5. **其它生物标本：**1000×g 离心 20 分钟，取上清即可检测。

6. **样品外观：**样品应清澈透明，悬浮物应离心去除。
7. **样品保存：**样品收集后若在 1 周内进行检测的可保存于 4℃，若不能及时检测，请按一次使用量分装，冻存于-20℃（1 个月内检测），或-80℃（6 个月内检测），避免反复冻融，标本溶血会影响最后检测结果，因此溶血标本不宜进行此项检测。

注意事项：

1. 严格按照规定的时间和温度进行温育以保证准确结果。所有试剂都必须在使用前达到室温 20-25℃。使用后立即冷藏保存试剂。
2. 洗板不正确可以导致不准确的结果。在加入底物前确保尽量吸干孔内液体。温育过程中不要让微孔干燥掉。
3. 消除板底残留的液体和手指印，否则影响 OD 值。
4. 底物显色液应呈无色或很浅的颜色，已经变蓝的底物液不能使用。
5. 避免试剂和标本的交叉污染以免造成错误结果。
6. 在储存和温育时避免强光直接照射。
7. 平衡至室温后再打开密封袋以防水滴凝聚在冷板条上。
8. 任何反应试剂不能接触漂白溶剂或漂白溶剂所散发的强烈气体。任何漂白成分都会破坏试剂盒中反应试剂的生物

活性。

9. 不能使用过期产品。

10. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。

操作步骤：

1．从室温平衡 60min 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．样本孔中加入待测样本 50μL；空白孔不加。样本如需稀释，按照要求用试剂盒配套样本稀释液稀释样本。

4．每孔加入生物素标记抗体 50μL，用封板膜封住反应孔，37℃水浴锅或恒温箱温育 30min；标准孔空白孔不加！

5．弃去液体，吸水纸上拍干，每孔加满洗涤液（350μL），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．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）标记的检测抗体 100μL，用封板膜封住反应孔，37℃水浴锅或恒温箱温育 30min。

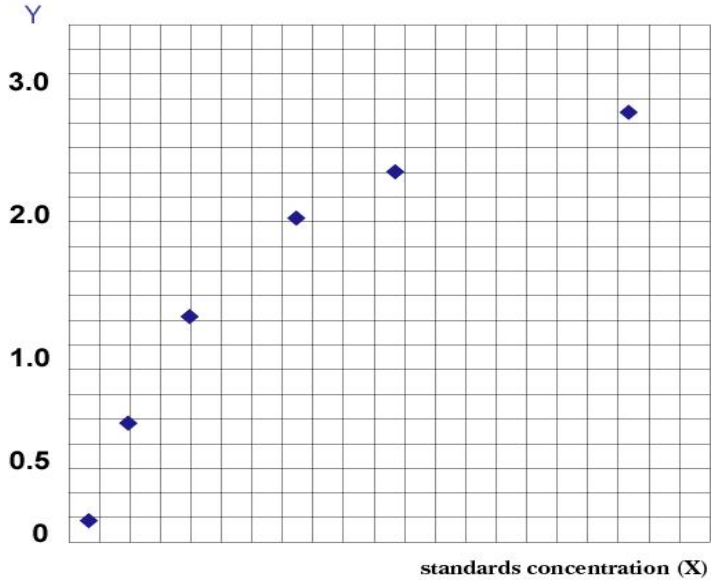
7．弃去液体，吸水纸上拍干，每孔加满洗涤液（350μL），静置 1min，甩去洗涤液，吸水纸上拍干，如此重复洗板 5 次（也可用洗板机洗板）。

8．每孔加入底物 A、B 各 50μL，37℃避光孵育 15min。

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

实验结果计算：

绘制标准曲线：在 Excel 工作表中，以标准品浓度作横坐标，对应 OD 值作纵坐标，绘制出标准品线性回归曲线，按曲线方程计算各样本浓度值。



（此图仅供参考）

试剂盒性能：

1. 检测范围：1.0 mIU/ml –80 mIU/ml。
2. 灵敏度：最低检测浓度小于 1.0 mIU/ml。
3. 特异性：不与其它可溶性结构类似物交叉反应。
4. 重复性：板内变异系数小于 10% ，板间变异系数小于 15% 。

技术小提示：

1. 当混合或重溶蛋白溶液时，尽量避免起沫。
2. 为了避免交叉感染，配置不同浓度标准品、上样、加不同试剂都需要更换枪头。另外不同试剂请分别使用不同的移液槽。
3. 每次孵育时，请正确使用封板胶可保证结果的准确性。
4. 混合后的显色底物在上板前应为无色，请避光保存；假如微孔板后，将由物色变成不同深度的蓝色。
5. 终止液上板顺序应同显色底物上板顺序一致；加入终止液后，孔内颜色由蓝变黄；若孔内有绿色，则表明孔内液体未混匀；请充分混合。

说明：

1. 由于现有条件及科学技术水平尚不能对所有供货商提供

的所有原料进行全面的鉴定与分析，本产品可能存在一定的质量技术风险。

2. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及当时的实验环境密切相关，请务必准备充足的标本备份。
3. 不同批次的同一产品可能会有少许差别，如：检测限、灵敏度以及显色时间等，请依据试剂盒内说明书进行实验操作，网站电子版说明书仅作参考。
4. 只有全部使用本试剂盒配套试剂才能保证检测效果，不能混用其他制造商的产品。只有严格遵守本试剂盒的实验说明才会得到最佳的检测结果。