人碱性成纤维细胞生长因子（bFGF）ELISA 试剂盒

本试剂盒仅供科研使用

1、查看 ELISA 实验常见问题请登录：http://www.yfxbio.com/article.asp?m_id=122

2、参考翼飞雪 ELISA 试剂盒引用文献请登录：http://www.yfxbio.com/article.asp?m_id=138

试剂盒编号： YFXEH00014

试剂盒适用： 人血液、组织、细胞上清、体液等标本中碱性成纤维细胞生长因子（bFGF）的含量。

一、试剂盒组成

试剂盒成分	96 孔	48 孔	储存温度
说明书	1 份	1 份	
封板膜	2 片（48）	2 片（96）	
密封袋	1 个	1 个	
微孔酶标板	12 孔×8 条	12 孔×4 条	2-8℃
标准品	0.3mL*6 管	0.3mL*6 管	2-8℃
注：标准品（S0-S5）浓度依次为：0pg/mL、5pg/mL、10pg/mL、20pg/mL、40pg/mL、80pg/mL。			
样本稀释液	6mL	3mL	2-8℃
检测抗体-HRP	10mL	5mL	2-8℃
20×洗涤缓冲液	25mL	15mL	2-8℃
注：20×洗涤缓冲液使用前用蒸馏水按 1：20 的比例稀释，即 1 份的 20×洗涤缓冲液加 19 份的蒸馏水。			
底物 A	6mL	3mL	2-8℃
底物 B	6mL	3mL	2-8℃
终止液	6mL	3mL	2-8℃

二、实验原理

本试剂盒采用双抗体一步夹心法测定标本中碱性成纤维细胞生长因子（bFGF）的水平。向预先包被碱性成纤维细胞生长因子（bFGF）抗体的包被微孔中，依次加入标本、标准品、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碱性成纤维细胞生长因子（bFGF）呈正相关。用酶标仪在 450nm 波长下测定吸光度（OD 值），计算样品浓度。

三、自备试剂耗材

酶标仪（450nm），高精度加样器及枪头：0.5-10μL、2-20μL、20-200μL、200-1000μL，37℃恒温箱。

四、样本处理要求

1、血清：室温血液自然凝固 10-20 分钟，离心 20 分钟左右（2000-3000 转/分）。仔细收集上清，保存过程中如出现沉淀，应再次离心。

2、血浆：应根据标本的要求选择 EDTA 或柠檬酸钠作为抗凝剂，混合 10-20 分钟后，离心

20 分钟左右（2000-3000 转/分）。仔细收集上清，保存过程中如有沉淀形成，应再次离心。

3、尿液：用无菌管收集，离心 20 分钟左右（2000-3000 转/分）。仔细收集上清，保存过程中如有沉淀形成，应再次离心。胸腹水、脑脊液参照实行。

4、细胞：检测分泌性的成份时，用无菌管收集，离心 20 分钟左右（2000-3000 转/分）。仔细收集上清。检测细胞内的成份时，用 PBS（PH7.2-7.4）稀释细胞悬液，细胞浓度达到 100 万/mL 左右。通过反复冻融，以使细胞破坏并放出细胞内成份。离心 20 分钟左右（2000-3000 转/分）。仔细收集上清。保存过程中如有沉淀形成，应再次离心。

5、组织标本：切割标本后，称取重量。加入一定量的 PBS，PH7.4（建议组织重量与 PBS 体积比例为 1:9，即 1g 组织，加入 9mL PBS）。用液氮迅速冷冻保存备用。标本融化后仍然保持 2-8℃的温度。加入一定量的 PBS（PH7.4），用手工或匀浆器将标本匀浆充分。离心 20 分钟左右（2000-3000 转/分）。仔细收集上清。分装后一份待检测，其余冷冻备用。

6、标本采集后尽早进行提取，提取按相关文献进行，提取后应尽快进行实验。若不能马上进行试验，可将标本放于-20℃保存，但应避免反复冻融。

7、不能检测含 NaN3 的样品，因 NaN3 抑制辣根过氧化物酶的（HRP）活性。

五、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。

六、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）标记的检测抗体 100μL，用封板膜封住反应孔，37℃水浴锅或恒温箱温育 60min。

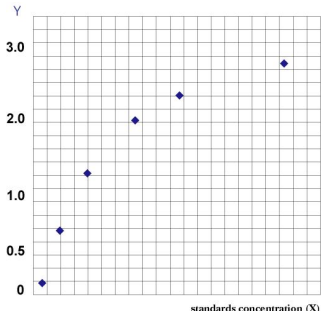
5、弃去液体，吸水纸上拍干，每孔加满洗涤液，静置 1min，甩去洗涤液，吸水纸上拍干，如此重复洗板 5 次（也可用洗板机洗板）。

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。

七、结果判断

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。



八、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≥ 0.9900。
2、灵敏度：最低检测浓度小于 1.0pg/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、板间变异系数均小于 15%。
5、贮藏：2-8℃，避光防潮保存。
6、有效期：6 个月。

九、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、浓度为 0 的 S0 号标准品即可视为阴性对照或者空白；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。

十、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。