

需要而未提供的试剂和器材

1. 酶标仪（450nm）
2. 高精度加样器及枪头：0.5-10 μ L、2-20 μ L、20-200 μ L、200-1000 μ L
3. 37 $^{\circ}$ C 恒温箱
4. 蒸馏水或去离子水

备注：

1. 标准品浓度依次为：80、40、20、10、5、2.5 U/L
2. 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 50 μ L 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。

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 $^{\circ}$ C。使用后应立即冷藏保存试剂。
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。

试剂准备

试剂盒从冷藏环境中取出应在室温平衡后方可使用。20 \times 洗涤缓冲液的稀释：蒸馏水按 1：20 稀释，即 1 份 20 \times 洗涤缓冲液加 19 份蒸馏水。

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 $^{\circ}$ C。
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 50 μ L；
3. 样本孔中加入待测样本 50 μ L；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 100 μ L，用封板膜封住反应孔，37 $^{\circ}$ C 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（350 μ L），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 50 μ L，37 $^{\circ}$ C 避光孵育 15min。
7. 每孔加入终止液 50 μ L，15min 内，在 450nm 波长处测定各孔的 OD 值。

间等，所以可能存在检测不出的情况。

7. 某些天然蛋白或重组蛋白，包括原核及真核重组蛋白，可能因为与本产品所使用的检测抗体及捕获抗体不匹配，而不被检测出。