天净沙系列

CAT#:31-001-TMAO

低温运输，4℃避光保存

天净沙

人氧化三甲胺 ELISA 试剂盒

Human TMAO ELISA Kit

使用手册 V0.8

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品是人氧化三甲胺 ELISA 试剂盒，试剂盒采用竞争法酶联免疫吸附试验（ELISA）。往预先包被氧化三甲胺（TMAO）抗体的包被微孔中，依次加入标本、标准品、HRP 标记的竞争抗原，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氧化三甲胺（TMAO）呈负相关。用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度（OD 值），计算样品浓度。它具有如下特点:

1. 本产品即开即用，操作简单便捷。
2. 特异性好，不与其它可溶性结构类似物交叉反应。
3. 高灵敏度，最低检测浓度小于 1.0 ng/mL。
4. 准确性高，标准品线性回归与预期浓度相关系数 R 值，大于等于 0.99。
5. 重复性高板内、板间变异系数均小于 15%。
6. 检测范围为 1.0-40 ng/mL。
7. 本试剂盒足够 96 次检测。
8. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用大扁盒包装

成份	编号	规格	包装
微孔酶标板	31-001-TMAO-a	96 T	logo 自封袋
人 TMAO 标准品	31-001-TMAO-b	0.3 mL×6 管	1.5 mL 本色管
样本稀释液	31-001-TMAO-e	6 mL	10 mL 本色瓶
竞争抗原-HRP 溶液	31-001-TMAO-c	6 mL	10 mL 本色瓶
20×洗涤缓冲液	31-001-TMAO-d	25 mL	30 mL 本色瓶
人 TMAO ELISA 底物液 1	31-001-TMAO-f	6 mL	10 mL 本色瓶
人 TMAO ELISA 底物液 2	31-001-TMAO-g	6 mL	10 mL 棕色瓶
人 TMAO ELISA 终止液	31-001-TMAO-h	6 mL	10 mL 本色瓶
封板膜	31-001-TMAO-i	2 张	logo 自封袋
使用手册	31-001-TMAO sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，4℃避光保存，有效期 6 个月。

自备物品

待测样本、蒸馏水、酶标仪、37℃恒温箱。

使用方法

一、使用前准备

1. 洗涤缓冲液稀释：用 20×洗涤缓冲液：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。即洗涤液。

2. 手工洗板：每孔加满洗涤液，静置 1 min 后甩尽孔内液体，在吸水纸上拍干，如此洗板 5 次。
3. 自动洗板机：每孔注入洗涤液 350 μL，浸泡 1 min，洗板 5 次。
4. 人 TMAO 标准品浓度依次为：0、2.5、5、10、20、40 ng/mL
5. 所有液体组分使用前应充分摇匀。

二、样品处理

6. 血清：使用不含热原和内毒素的试管，收集血液后，3000×g 离心 10 分钟将血清和红细胞迅速小心地分离，操作过程中应避免任何细胞刺激。
7. 血浆：可用 EDTA、柠檬酸盐或肝素抗凝。3000×g 离心 30 分钟取上清。
8. 细胞上清液：3000×g 离心 10 分钟去除颗粒和聚合物。
9. 组织匀浆：将组织加入适量生理盐水捣碎。3000×g 离心 10 分钟取上清。

注：样本收集后可冻存于-20℃，避免反复冻融，在室温下并确保样品充分解冻。

三、ELISA 实验步骤

10. 室温平衡 20 min 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℃。
11. 设置标准品孔和样本孔，在标准品孔各加不同浓度的人 TMAO 标准品 50 μL;
12. 样本孔先加待测样本 10 μL，再加样本稀释液 40 μL；空白孔不加。
13. 除空白孔外，标准品孔和样本孔中每孔加入竞争抗原-HRP 溶液 50 μL，用封板膜封住反应孔，37℃水浴锅或恒温箱温育 60 min。
14. 弃去液体，吸水纸上拍干，每孔加满洗涤液，静置 1 min，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）。
15. 每孔加入人 TMAO ELISA 底物液 1、人 TMAO ELISA 底物液 2 各 50 μL，37℃避光孵育 15 min。
16. 每孔加入人 TMAO ELISA 终止液 50 μL，15 min 内，在 450 nm 波长处测定各孔的 OD 值。

四、结果分析

17. 以标准品浓度为横坐标，OD 值为纵坐标绘制标准曲线。按曲线方程计算各样本浓度值。

五、注意事项

18. 试剂盒使用前室温平衡 20 分钟。从冰箱取出的浓缩洗涤液会有结晶，水浴加热使结晶完全溶解后再使用。
19. 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。

	20. 浓度为 0 的 S0 号标准品即可视为阴性对照或者空白；按照手册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。 21. 严格按照手册中标明的时间、加液量及顺序进行温育操作。
关联产品	ELISA 专用 TMB 显色液