



**EK-Bioscience**

*Biotechnology Co., Ltd. Shanghai enzyme research*

**This kit is for in vitro research use, not for clinical diagnosis!**

(本试剂盒仅供体外研究使用, 不用于临床诊断!)

## 人左旋肉碱 (L-Carnitine) 酶联免疫分析试剂盒

### Human ( L-Carnitine ) ELISA Kit

CAS. NO: EK-H12425

**声明:** 尊敬的客户, 感谢您选用本公司的产品。本试剂盒用于测定人血清、血浆及相关液体样本中左旋肉碱 (L-Carnitine) 含量。使用前请仔细阅读说明书并检查试剂组分! 如有疑问, 请及时联系我们。

#### 试剂盒组成:

| 中文名称           | English name           | 96T/48T 含量     | 保存   |
|----------------|------------------------|----------------|------|
| ELISA 酶标板(可拆卸) | Microelisa stripplate  | 8×12 / 8×6 *   | 2-8℃ |
| 标准品(80pg/ml)   | Standard               | 1 瓶 0.5ml *    | 2-8℃ |
| 标准品稀释液         | Standard diluent       | 1 瓶 1.5ml *    | 2-8℃ |
| 酶标试剂           | HRP-Conjugate reagent  | 1 瓶 6 ml/3ml * | 2-8℃ |
| 样品稀释液          | Sample diluent         | 1 瓶 6 ml/3ml * | 2-8℃ |
| 显色剂 A 液        | Chromogen Solution A   | 1 瓶 6 ml/3ml * | 2-8℃ |
| 显色剂 B 液        | Chromogen Solution B   | 1 瓶 6 ml/3ml * | 2-8℃ |
| 终止液            | Stop Solution          | 1 瓶 6 ml/3ml * | 2-8℃ |
| 浓缩洗涤液          | wash solution          | 1 瓶 20ml *     | 2-8℃ |
| 说明书            | Instruction            | 1 份 *          |      |
| 封板膜            | Closure plate membrane | 2 片 *          |      |
| 密封袋            | Sealed bags            | 1 个 *          |      |

#### 实验原理

本试剂盒应用双抗体夹心法测定标本中人左旋肉碱 (L-Carnitine) 水平。用纯化的人左旋肉碱 (L-Carnitine) 抗体包被微孔板, 制成固相抗体, 往包被单抗的微孔中依次加入左旋肉碱 (L-Carnitine), 再与 HRP 标记的左旋肉碱 (L-Carnitine) 抗体结合, 形成抗体-抗原-酶标抗体复合物, 经过彻底洗涤后加底物 TMB 显色。TMB 在 HRP 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左旋肉碱 (L-Carnitine) 呈

正相关。用酶标仪在 450nm 波长下测定吸光度（OD 值），通过标准曲线计算样品中人左旋肉碱（L-Carnitine）浓度。

### 标本要求

1. **血清：**室温血液自然凝固 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。
2. **血浆：**应根据标本的要求选择 EDTA、柠檬酸钠或肝素作为抗凝剂，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、脑脊液参照此实行。
4. **细胞培养上清：**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。
5. **培养细胞：**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。通过反复冻融或加入组织蛋白萃取试剂，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。
6. **组织标本：**切割标本后，称取重量。加入一定量的 PBS，PH7.4。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），或组织蛋白萃取试剂，用手工或匀浆器将标本匀浆化。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。
7. 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
8. 不能检测含 NaN<sub>3</sub> 的样品，因 NaN<sub>3</sub> 抑制辣根过氧化物酶的（HRP）活性。

### 试验所需自备物品：

1. 酶标仪(450nm 波长滤光片)
2. 高精度移液器，EP 管及一次性吸头
3. 37℃ 恒温箱，双蒸水或去离子水
4. 吸水纸

### 操作步骤

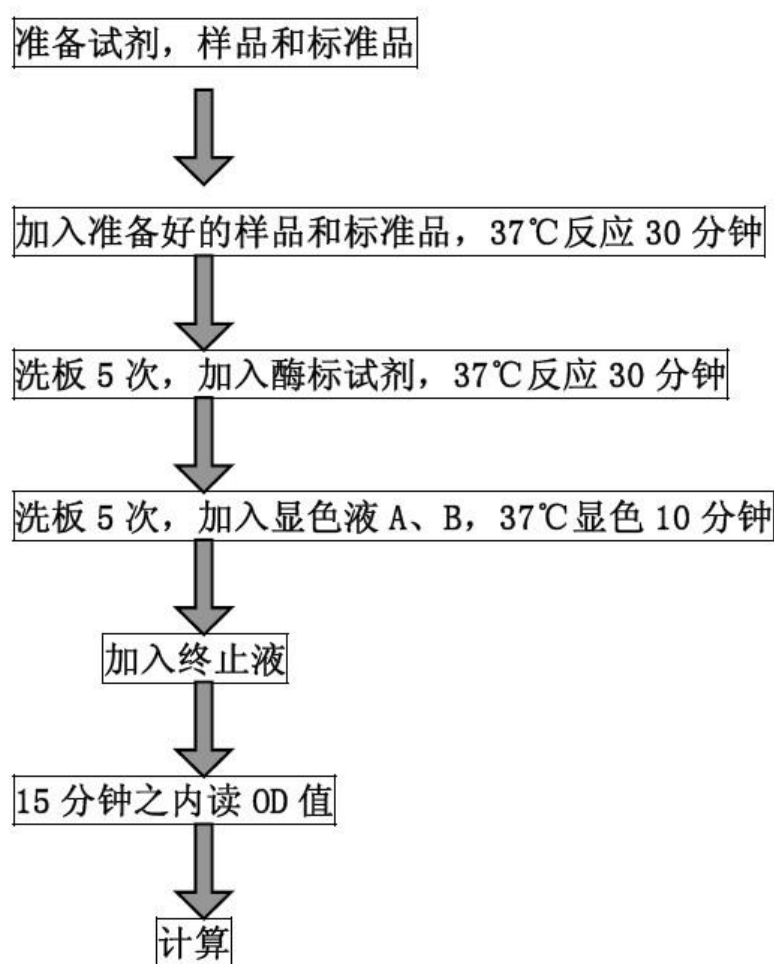
1. 标准品的稀释：本试剂盒提供原倍标准品一支，用户可按照下列图表在小试管中进行稀释。

|          |        |                               |
|----------|--------|-------------------------------|
| 40pg/ml  | 5 号标准品 | 150μl 的原倍标准品加入 150μl 标准品稀释液   |
| 20pg/ml  | 4 号标准品 | 150μl 的 5 号标准品加入 150μl 标准品稀释液 |
| 10pg/ml  | 3 号标准品 | 150μl 的 4 号标准品加入 150μl 标准品稀释液 |
| 5pg/ml   | 2 号标准品 | 150μl 的 3 号标准品加入 150μl 标准品稀释液 |
| 2.5pg/ml | 1 号标准品 | 150μl 的 2 号标准品加入 150μl 标准品稀释液 |

2. 加样：分别设空白孔（空白对照孔不加样品及酶标试剂，其余各步操作相同）、标准孔、待测样品孔。在酶标包被板上标准品准确加样 50μl，待测样品孔中先加样品稀释液 40μl，然后再加待测样品 10μl（样品最终稀释度为 5 倍）。加样将样品加于酶标板孔底部，尽量不触及孔壁，轻轻晃动混匀。
3. 温育：用封板膜封板后置 37℃ 温育 30 分钟。
4. 配液：将 30 倍（48T 的 20 倍）浓缩洗涤液用蒸馏水 30 倍稀释后备用

5. 洗涤：小心揭掉封板膜，弃去液体，甩干，每孔加满洗涤液，静置 30 秒后弃去，如此重复 5 次，拍干。
6. 加酶：每孔加入酶标试剂 50 $\mu$ l，空白孔除外。
7. 温育：用封板膜封板后置 37℃温育 30 分钟。
8. 洗涤：小心揭掉封板膜，弃去液体，甩干，每孔加满洗涤液，静置 30 秒后弃去，如此重复 5 次，拍干。
9. 显色：每孔先加入显色剂 A50 $\mu$ l，再加入显色剂 B50 $\mu$ l，轻轻震荡混匀，37℃避光显色 10 分钟。
10. 终止：每孔加终止液 50 $\mu$ l，终止反应（此时蓝色立转黄色）。
11. 测定：以空白空调零，450nm 波长依序测量各孔的吸光度（OD 值）。测定应在加终止液后 15 分钟以内进行。

#### 操作程序总结：



#### 计算

以标准物的浓度为横坐标，OD 值为纵坐标，在坐标纸上绘出标准曲线，根据样品的 OD 值由标准曲线查出相应的浓度；再乘以稀释倍数；或用标准物的浓度与 OD 值计算出标准曲线的直线回归方程式，将样品的 OD 值代入方程式，计算出样品浓度，再乘以稀释倍数，即为样品的实际浓度。

## 注意事项

1. 试剂盒从冷藏环境中取出应在室温平衡 15-30 分钟后方可使用，酶标包被板开封后如未用完，板条应装入密封袋中保存。
2. 浓洗涤液可能会有结晶析出，稀释时可在水浴中加温助溶，洗涤时不影响结果。
3. 各步加样均应使用加样器，并经常校对其准确性，以避免试验误差。一次加样时间最好控制在 5 分钟内，如标本数量多，推荐使用排枪加样。
4. 请每次测定的同时做标准曲线，最好做复孔。如标本中待测物质含量过高（样本 OD 值大于标准品孔第一孔的 OD 值），请先用样品稀释液稀释一定倍数（n 倍）后再测定，计算时请最后乘以总稀释倍数（ $\times n \times 5$ ）。
5. 封板膜只限一次性使用，以避免交叉污染。
6. 底物请避光保存。
7. 严格按照说明书的操作进行，试验结果判定必须以酶标仪读数为准。
8. 所有样品，洗涤液和各种废弃物都应按传染病物处理。
9. 本试剂不同批号组分不得混用。

## 实验目的、灵敏度、检测范围和重复性:

- 实验目的：测定人血清、血浆及相关液体样本中左旋肉碱（L-Carnitine）含量。
- 灵敏度：最小可测 0.72pg/ml。
- 检测范围 1.2pg/ml-50pg/ml。
- 重复性：板内，板间变异系数均<10%。

## 问题分析

若实验效果不好，请及时对显色结果拍照，保留所用板条及未使用试剂，并妥善保存，然后联系我公司技术支持为您解决问题。同时您也可以参考以下资料：

| 问题描述    | 可能原因        | 相应对策                                   |
|---------|-------------|----------------------------------------|
| 标准曲线梯度差 | 吸液或加液不准     | 检查移液器及吸头                               |
|         | 标准品稀释不正确    | 溶解标准品稍微旋转瓶身，轻轻混匀使粉末完全溶解                |
|         | 洗涤不完全       | 保证洗涤时间和洗涤次数及每孔的加液量                     |
| 显色很弱或无色 | 孵育时间太短      | 保证充足的孵育时间                              |
|         | 实验温度不正确     | 使用推荐的实验温度                              |
|         | 试剂体积不够或漏加   | 检查吸液及加液过程，保证所有试剂按顺序足量添加                |
|         | 稀释不正确       |                                        |
| 读数数值低   | 酶标仪设置不正确    | 在酶标仪上检查波长及滤光片设置                        |
|         |             | 提前打开酶标仪预热                              |
| 变异系数大   | 加液不正确       | 检查加液情况                                 |
| 背景值高    | 检测抗体的工作浓度   | 使用推荐的稀释倍数                              |
|         | 酶标板洗涤不完全    | 重新阅读操作手册，保证清洗完全；如果用自动洗板机，请检查所有的出口是否有堵塞 |
|         | 洗液有污染       | 配制新鲜的洗液                                |
| 灵敏度低    | ELISA 试剂盒保存 | 按说明书要求保存相关试剂                           |
|         | 读数前未终止      | OD 读数前应在每孔中加入终止液                       |

## 声明

1. 限于现有条件及科学技术水平，尚不能对所有原料进行全面的鉴定分析，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，请务必准备充足的待测样品。
3. 只有全部使用试剂盒内的试剂才能保证检测效果，不能混用其他制造商的产品。只有严格遵守本实验说明才会得到最佳的检测结果。
4. 有效期：6 个月。

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

|          |                     |                  |
|----------|---------------------|------------------|
| 销售部电话    | TEL                 | 021-61840799     |
| 电子邮箱（销售） | E-mail(sale)        | shmysw06@163.com |
| 电子邮箱（技术） | E-mail(technician)  | shmysw08@163.com |
| QQ 客服    | QQ customer service | 2712765620       |
| 网址       | http://             | www.elisakits.cn |

联系时请提供产品货号，以便我们更高效地为您服务。 谢谢！

**This kit is for in vitro research use, not for clinical diagnosis!**