

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：E-BC-K1105-M

产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器：酶标仪(500 nm)

Elabscience®生物素比色法测试盒

Biotin Colorimetric Assay Kit

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：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测被生物素标记抗体或蛋白的生物素含量。

检测原理

生物素（Biotin）是一种重要的生物分子，广泛用于生物素化反应中标记抗体或其他蛋白质。

本试剂盒检测原理：生物素可以竞争与染料结合的亲和素，使其在 500 nm 处吸光值下降，从而计算生物素的含量。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	15 mL×1 瓶	30 mL×1 瓶	-20℃ 避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 A (Substrate A)	0.02 mL×1 支	0.04 mL×1 支	-20℃ 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	底物 B (Substrate B)	0.6 mL×1 支	1.2 mL×1 支	-20℃ 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	碱溶液 (Alkali Reagent)	2 mL×1 支	4 mL×1 瓶	-20℃ 避光 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	30 mmol/L 标准品溶液 (30 mmol/L Standard Solution)	0.02 mL×1 支	0.02 mL×1 支	-20℃ 避光 保存 6 个月
	酶标板	48 孔 × 1 块	96 孔 × 1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(500 nm)、恒温箱

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温（25°C）。

② 试剂二稀释液的配制：

将试剂四：试剂一按体积比=1：9混合均匀，按需配制，未使用完的试剂二稀释液可分装-20°C避光保存7天。

③ 试剂二工作液的配制：

将试剂二：试剂二稀释液按体积比=1：99混合均匀（黄色透明有效），按需配制，-20°C避光保存1天。

④ 试剂三工作液的配制：

将试剂三：双蒸水按体积比=1：1混合均匀，按需配制，未使用完的试剂三工作液可分装-20°C避光保存7天。

⑤ 反应工作液的配制：

将试剂二工作液：试剂三工作液按体积比=1：1混合均匀（橙色透明有效），按需配制，未使用完的反应工作液可分装-20°C避光保存1天。

⑥ 300 μmol/L标准品溶液的配制：

将试剂五：试剂一按体积比=1：99混合均匀，按需配制，未使用完的标准品溶液可分装-20°C避光保存7天。

⑦ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(μmol/L)	0	60	90	120	150	180	210	300
300 μmol/L 标准品(μL)	0	40	60	80	100	120	140	200
试剂一(μL)	200	160	140	120	100	80	60	0

样本准备

① 样本处理

被生物素标记抗体或蛋白：直接使用。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择 2-3 个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：12.60 - 300.00 $\mu\text{mol/L}$ ，进行稀释，稀释液为双蒸水。

操作步骤

- ① 标准孔：取 20 μL 不同浓度的标准品溶液，分别加入相应的板孔中。
测定孔：取 20 μL 待测样本加入相应的板孔中。
- ② 向步骤①各孔中加入 40 μL 反应工作液。
- ③ 向步骤②各孔中加入 140 μL 试剂一。
- ④ 酶标仪于 500 nm 处立即检测各孔 OD 值。

操作表

	标准孔	测定孔
不同浓度标准品(μL)	20	--
待测样本(μL)	--	20
反应工作液(μL)	40	40
试剂一(μL)	140	140
酶标仪于 500 nm 处立即检测各孔 OD 值。		

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

样本中生物素含量计算公式:

$$\text{Biotin 含量} \begin{matrix} (\mu\text{mol/L}) \end{matrix} = (\Delta A - b) \div a \times f$$

注解:

y: 空白 OD 值-标准品 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

ΔA : 空白 OD 值 - 测定 OD 值

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

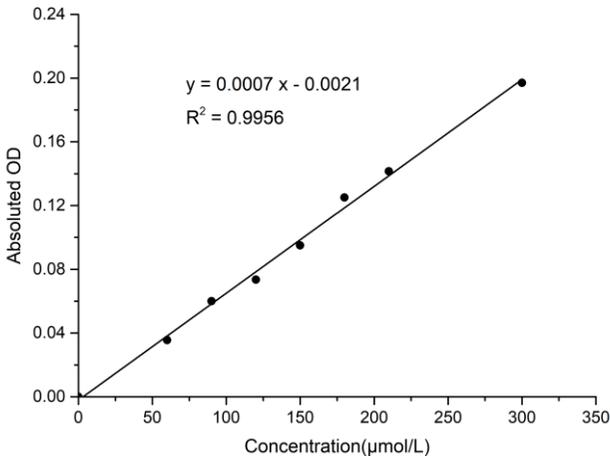
检测范围	12.60-300.00 $\mu\text{mol/L}$	批间差	3.5-6.0%
灵敏度	12.60 $\mu\text{mol/L}$	批内差	1.2-3.4%

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度的标准品加样量20 μL ，按照操作步骤进行实验，各点OD值如下表所示(仅供参考):

标准品浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	0	60	90	120	150	180	210	300
OD 值	0.272	0.240	0.208	0.195	0.179	0.145	0.132	0.072
	0.274	0.234	0.217	0.203	0.176	0.150	0.130	0.079
平均 OD 值	0.273	0.237	0.213	0.199	0.178	0.148	0.131	0.076
绝对 OD 值	0.000	0.036	0.060	0.074	0.095	0.125	0.142	0.197

②按上表数据绘制标准曲线，如下图所示：



声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

