实验原理：

本试剂盒采用双抗体夹心酶联免疫吸附法（ELISA）检测小鼠COL2。预先包被COL2特异性捕获抗体的微孔板与样本中的COL2结合，再加入生物素标记的检测抗体形成夹心复合物，最后通过辣根过氧化物酶（HRP）标记的亲和素催化TMB显色，颜色深浅与样本中COL2浓度成正比。

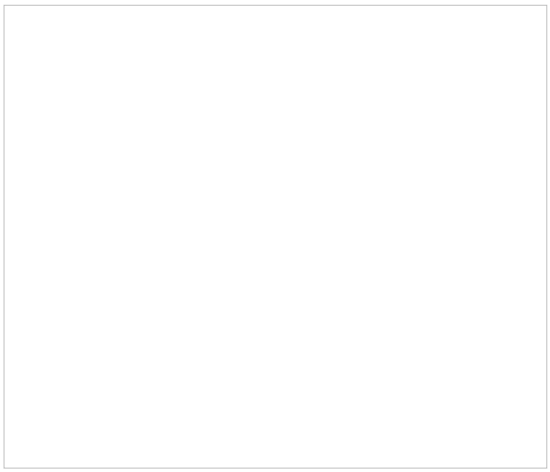
结果的计算：

计算标准品和样本复孔的平均OD值并减去空白孔的OD值作为校正值。以浓度为横坐标，OD值为纵坐标，在坐标纸上绘出四参数逻辑函数的标准曲线（作图时去掉空白组的值）或者使用能够生成四参数逻辑（4-P）曲线拟合的计算机软件来创建标准曲线。若样品OD值高于标准曲线上限，应适当稀释后重测并在计算样本浓度时乘以相应的稀释倍数。

典型数据及参考曲线：

以下数据和曲线仅供参考，实验者需根据自己的实验数据建立标准曲线。

校准品浓度(pg/mL)	4000.00	2000.00	1000.00	500.00	250.00	125.00	62.50	0.00
OD450/630值	2.656	1.548	0.794	0.488	0.358	0.167	0.100	0.013
校正OD值	2.643	1.535	0.781	0.475	0.345	0.154	0.087	0.000



本图所示标准曲线仅供示例，结果计算应以同次试验标准品所绘标准曲线为准计算样本结果

灵敏度：

经样本测试，本试剂盒的检测灵敏度为 62.5pg/mL

特异性：

可检测样本中的COL2 ，且与其它类似物无明显交叉反应

检测范围：

本试剂盒的检测范围为：125pg/mL-4000pg/mL

样本检测：

血清，血浆，细胞培养上清及其他生物学样本

样本处理：

1. 血清样本

室温静置2小时或4℃过夜后，1000×g离心20分钟

取上清，-20℃或-80℃保存（避免反复冻融）

2. 血浆样本

用EDTA或肝素抗凝，采集后30分钟内2-8℃ 1000×g离心15分钟

取上清，保存条件同血清

3. 组织匀浆

用预冷PBS冲洗组织，按1:9重量体积比加入PBS（含蛋白酶抑制剂）

冰上匀浆后离心取上清

4. 细胞裂解液

推荐使用非变性裂解缓冲液（避免化学裂解液干扰）

检测实验的局限性：

本试剂盒仅供科研使用，不能用于临床诊断或治疗。

1. 试剂盒的使用期限不得超过试剂盒标签上的有效期。不要将试剂与其他批次或来源的试剂混合使用或替换使用。

2. 如果样品产生的值高于最高标准，则用测定稀释剂进一步稀释样品，并重复测定。稀释剂、实验员、移液技术、洗涤技术、培养时间或温度以及试剂盒使用年限的任何变化都可能导致结果变化。

3. 样本采集、处理和存储的变化可能会导致样本值的差异。

4. 本试剂盒实验设计消除了不同生物样品中可能潜在的干扰因素的影响，但并不能涵盖所有潜在影响因素。不能排除存在其他干扰的可能性。

操作要点及注意事项：

1. 混合蛋白质溶液时，应始终避免起泡。为了避免交叉污染，在添加每个标准品、样品和试剂时应更换移液器枪头。此外，每种试剂应单独使用容器。

2. 确保试剂不间断地添加到板孔中。为了确保准确的结果，在孵育步骤中需要粘合好封板膜。

3. 当使用自动洗板机时，在加入洗涤缓冲液后加入30秒的浸泡期，或者在洗涤步骤之间将板旋转180度，可以提高测定精度。

4. 显色剂应保持无色，直到添加到板中。确保显色剂不受光线照射。显色剂应从无色变为蓝色。

5. 应按照与显色剂相同的顺序将终止液添加到板中。加入终止液后，孔中形成的颜色将从蓝色变为黄色。绿色的孔表示终止液未与基质溶液充分混合。

6. 此试剂盒提供的终止液为稀硫酸溶液，具有一定腐蚀性，应谨慎操作。

7. 该试剂盒中的某些成分含有防腐剂，可能会引起皮肤过敏反应，应佩带口罩避免吸入薄雾。

8. 显色剂B可能会引起皮肤、眼睛和呼吸道刺激，应佩带口罩避免吸入薄雾。

9. 佩戴防护手套、防护服、眼睛和面部防护用品。处理后彻底洗手。