



Mouse/Rat Von Willebrand Factor/vWF

ELISA Instructions

CAT: EMY0079

组分

	CAT	Volume
① CP (Coated Plate)	EMY0079CP	96 well
② S (Standard)	EMY0079S1~S7,S0	8 vial
③ DD (Detect Antibody Diluent)	EDD02	6 ml/bottle
④ DA-H (Detect Antibody-HRP 100×)	EMY0079DA-H	50 µl/vial
⑤ AB (Assay Buffer 1×)	EAB01	12 ml/bottle
⑥ TS (TMB Substrate)	ETS01	12 ml/bottle
⑦ SS (Stop Solution)	ESS01	12 ml/bottle
⑧ WB (Wash Buffer 10×)	EWB01	50 ml/bottle
⑨ SF (Sealer Film)	ESF01	6 pieces

■ 注: 试剂盒打开后, 各组分可稳定 30 天。

试剂准备

1×洗液制备

吸取 10×浓缩洗液 50 ml 至 500 ml 量筒, 加蒸馏水或去离子水至 500 ml, 轻轻混匀。转移至干净瓶内。2-25℃贮存。

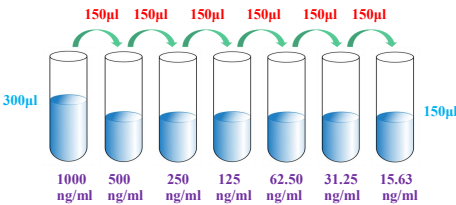
1×检测抗体制备

稀释前充分混合。

根据标准品和样品的需要, 用 DD (检测抗体稀释液) 在干净的塑料管中对浓缩的检测抗体溶液进行 1:100 稀释。

标准曲线的制作:

S1 至 S7 和 S0 直接用于血清和血浆样本检测。



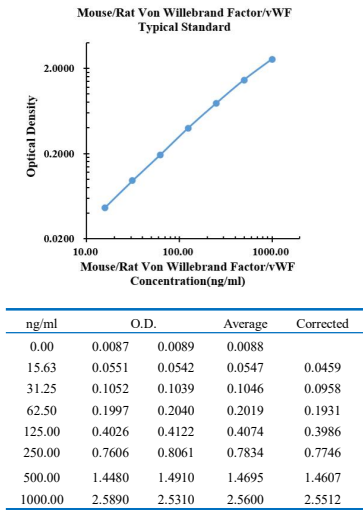
检测步骤

检测之前请将所有的试剂、样本恢复至室温

- ① 准备好所有需要的试剂及工作浓度标准品。
- ② 将不需要的**板条**拆卸下来, 放回铝箔袋, 重新封好封口。
- ③ 每孔加入 50 µl **检测缓冲液 (AB)**。
- ④ 加入 10 µl 的**标准品 (S)**、**样本**。保证连续加样, 请不要间断。加样过程在 15 分钟内完成。
- ⑤ 每孔加入 50 µl **检测抗体 (DA-H)**。
- ⑥ 使用**封板膜 (SF)** 封板。500 转/分钟振荡, 室温孵育 60 分钟。
- ⑦ 弃掉孔内液体, 每孔加入 300 µl **洗液**洗板, 洗涤 4 次。每次洗板, 在吸水纸上拍干。为获得理想的实验性能, 必须彻底移除残留液体。
- ⑧ 每孔加入 100 µl **显色底物 TMB (TS)**, 室温孵育 5-30 分钟。
- ⑨ 每孔加入 100 µl **终止液 (SS)**。
- ⑩ 在 30 分钟之内, **酶标板** 450 nm 波长测定 OD 值, 校正波长设定为 570 nm 或者 630 nm。

典型数据

每一次的检测，每一块微孔板都必须设立标准曲线。下方标准曲线仅作为示例展示。



灵敏度

小鼠/大鼠 Von Willebrand Factor/vWF 的最低可检测浓度为 0.07 ng/ml (10 μl 上样量)。
10 个零浓度空白值 OD 的平均值加上两个 SD，计算最低可检测浓度。

精密度

- 酶标板内精密度：3 个已知浓度的样本酶标板内重复测定 22 次，评估酶标板内的精密度。
- 酶标板间精密度：3 个已知浓度的样本酶标板间重复检测 6 次，评估酶标板间的精密度。

	酶标板内精密度			酶标板间精密度		
	S1	S2	S3	S1	S2	S3
样本数量	22	22	22	6	6	6
平均值 (ng/ml)	20.7	97.2	277.5	19.5	93.1	274.8
标准差	0.9	4.8	10.3	0.9	4.2	12.6
变异系数 (%)	4.6	5.0	3.7	4.6	4.5	4.6

回收率

健康小鼠/大鼠血清加入 3 个不同浓度水平的小鼠/大鼠 Von Willebrand Factor/vWF，未加入小鼠/大鼠 Von Willebrand Factor/vWF 的血清作为本底，计算回收率。
回收率的范围从 80% 至 120%，平均回收率为 108%。

稀释线性

5 份健康小鼠/大鼠血清加入高浓度的小鼠/大鼠 Von Willebrand Factor/vWF，并在标准曲线的动力学范围内进行系列稀释，评估检测的线性。
线性范围为 82% 至 119%，总体平均回收率为 107%。

样本值

应用本试剂盒，检测 30 份健康小鼠和大鼠的血清样本。

样本类型	检测样本数量	浓度范围 (ng/ml)	可测百分率 (%)	可测样本平均浓度 (ng/ml)
小鼠血清	30	58.63-152.00	100	80.70
大鼠血清	30	179.60-432.13	100	268.37

n. d. =测不到浓度值。样本的浓度值低于灵敏度被认为测不到浓度值。