www.mlbio.cn

mlbio 梅联®

大麻二酚(CBD) ELISA 定量检测试剂盒说明书

Catalog Number：ml104000

产品仅供教研使用

用于定量检测血清、组织等样本中的CBD的含量。

使用本产品之前，必须完整阅读本说明书，仅供科研使用。

For research use only. Not for use in industrial procedures.

简介 3
检测原理 3
检测实验的局限性 4
操作要点 4
试剂盒组成及储存条件 5
需要的其他材料 5
注意事项 6
样品预处理 6
试剂准备 6
实验步骤 9
结果的计算 10
示例数据 10
精密度 10
回收率 11
灵敏度 11
线性关系 12
交叉反应性 12
参考文献 12

For research use only. Not for use in industrial procedures.

简介

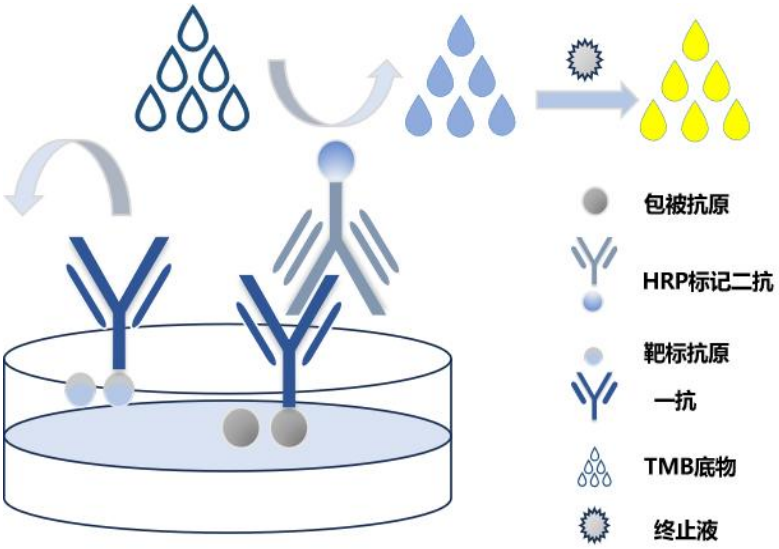
大麻二酚（Cannabidiol，简称CBD）是大麻植物中的一种非精神活性成分，具有多种药理作用。根据现有研究，CBD在抗癫痫、抗炎、抗氧化、抗肿瘤等方面表现出显著的治疗潜力。例如，CBD能够通过调节癫痫发作频率和持续时间来抑制癫痫发作，其每日口服剂量2mg/kg时，可显著降低癫痫病人的发作频率。

本酶联免疫检测试剂盒可以经济、快速地检测血清、组织等样本中的CBD的残留量。

检测原理

本试剂盒采用间接竞争 ELISA 方法，在酶标板微孔条上预包被偶联抗原，样本中 CBD 和微孔条上预包被的偶联抗原竞争 CBD 抗体，加入酶标二抗后，形成包被抗原-抗体-酶标二抗复合物。随后结合的酶催化 TMB 底物显色，样本吸光值与其含有的 CBD 成负相关。通过标准曲线可准确定量样品中 CBD 的含量。通过标准曲线计算所得值乘以样品处理的稀释倍数即为实际样品中 CBD 的含量。

For research use only. Not for use in industrial procedures.



◀间接竞争法模式图

按操作顺序形成包被抗原-抗体-酶标二抗复合物后，加入TMB底物，板孔液体由无色变成蓝色，再加入终止液液体变为黄色后进行吸光度值测定。

检测实验的局限性

仅供科研使用。

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。

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、操作人员、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合变化。

样本采集、处理和存储的变化可能会导致样本值的差异。

本试剂盒实验设计消除了不同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

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。

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。

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。

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。蓝色的孔表示终止液未与溶液充分混合。

试剂盒组成及储存条件

名 称	规格（48T）	规格（96T）	储存条件
预包被酶标板	8×6 条	8×12 条	剩余置于 2-8℃储存至多 1 个月
标准品	1 支×100μL	1 支×200μL	剩余置于-20℃储存至多 6 个月
100×一抗试剂	1 支×50μL	1 支×100μL	剩余置于-20℃储存至多 6 个月
100×酶标抗体	1 支×50μL	1 支×100μL	
20×浓缩稀释液	1 支×15mL	1 支×25mL	置于 2-8℃可保存至有效期末
显色剂 A	1 支×3mL	1 支×6mL	
显色剂 B	1 支×3mL	1 支×6mL	
终止液	1 支×3mL	1 支×6mL	
20×浓缩洗涤液	1 支×15mL	1 支×25mL	
封板膜	2 张	2 张	
产品说明书	1 份	1 份	

需要的其他材料

For research use only. Not for use in industrial procedures.

- 酶标仪，450nm/630nm
- 移液器及枪头；
- 蒸馏水或去离子水
- 100-1000 mL刻度量筒。
- 洗瓶、排枪或自动微孔板清洗机。
- 恒温培养箱
- 振荡器
- 天平（感量0.01g）
- 用于稀释标准品和样品的试管。
- 50mL离心管

注意事项

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。

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。

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。

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。

样品预处理

下面列出的样品收集和储存条件旨在作为一般性指导。样品稳定性尚未评估。

血清：使用血清分离管，使样品在室温下凝结30分钟，然后在1000×g下离心15分钟。立即取出血清并进行测定或等分装样品，将样品储存在≤-20℃

For research use only. Not for use in industrial procedures.

的温度下。避免重复冻融循环。（由于基质效应，血清样品建议2倍稀释。例如：50μL样品+50μL的1×稀释液）

血浆：使用EDTA或肝素作为抗凝剂收集血浆。收集后30分钟内，以1000×g离心15分钟。立即测定或等分装样品，并将样品储存在≤-20℃的温度下。避免重复冻融循环。（由于基质效应，血浆样品建议2倍稀释。例如：50μL样品+50μL的1×稀释液）

注：柠檬酸盐抗凝剂血浆未经验证可用于本试验，使用时应自行验证可行性。溶血的样品不适合用于该测定。

组织匀浆：用预冷的PBS(0.01M,pH=7.4)冲洗组织，去除残留血液（匀浆中裂解的红细胞会影响检测结果），称重后将组织剪碎。将剪碎的组织与对应体积的PBS（一般按1:9的重量体积比，比如1g的组织样品对应9mL的PBS，具体体积可根据实验需要适当调整，并做好记录。推荐在PBS中加入蛋白酶抑制剂）加入玻璃匀浆器中，于冰上充分研磨或匀浆机研磨。为了进一步裂解组织细胞，可以对匀浆液进行超声破碎，或反复冻融。最后将匀浆液于5000×g离心5-10分钟，取上清检测。

细胞裂解液：贴壁细胞用预冷PBS轻轻清洗，然后用胰蛋白酶消化，1000×g离心5分钟后收集细胞；悬浮细胞可直接离心收集。收集的细胞用预冷PBS清洗3次，每1×10^6个细胞中加入150-200μL的PBS重悬（推荐在PBS中加入蛋白酶抑制剂；若含量很低可适当减少PBS体积）并通过反复冻融或超声使细胞破碎。将提取液于2-8℃，1500×g离心10分钟，取上清检测。

其它样本类型：1000×g离心20分钟，取上清即可检测。

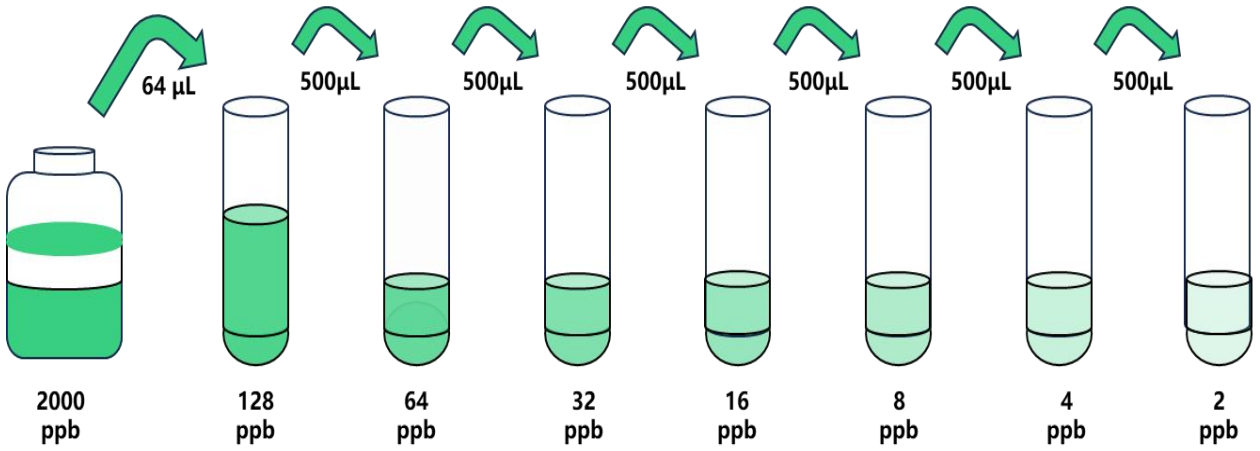
For research use only. Not for use in industrial procedures.

试剂准备

使用前将所有试剂置于室温平衡30分钟左右。

洗涤液/稀释液配制：如果洗涤液/稀释液（20×）有晶体析出，需在37℃下加热至晶体全部溶解。用蒸馏水1:20稀释 (例如：1mL 浓缩洗涤液加入19mL的蒸馏水)

标准品配制：试剂盒中取出标准品，准备7个试管，先将2000 ppb标准品（200μL）按需吸取一定量用1×稀释液稀释至128 ppb（例：64μL的标准品母液+936μL的1×稀释液，制备得到1000μL的128 ppb浓度标准品），随后在6个试管中分别加入500μL的1×稀释液，在这6个单独的试管中将128 ppb标准品依次2倍倍比稀释至6个梯度，共配制7个浓度的标准品，依次为：128 ppb、64 ppb、32 ppb、16 ppb、8 ppb、4 ppb、2 ppb，从最高浓度标准品溶液中吸取500μL标准品到下一个试管中，轻轻吹打混匀，以此类推进行标准品的倍比稀释（如图所示），1×稀释液用作零浓度标准品(0ppb)。



一抗工作液配制：使用前10分钟，用1×稀释液将100×一抗工作液稀释成

For research use only. Not for use in industrial procedures.

1×一抗工作液，根据所需用量配置。

酶标二抗工作液配制：使用前10分钟，用1×稀释液将100×酶标二抗稀释成1×酶标抗体工作液，根据所需用量配置。

备注：如样本中待测物浓度高于标准品最高值，请根据实际情况选择适当的稀释倍数（建议：将待测样本用样品稀释液最低稀释1倍，在正式实验之前做预实验，以确定具体稀释倍数）；标准品母液及100×酶标二抗溶液根据实验所需酶标板孔数吸取一定量配制工作液，剩余溶液应放回-20℃储存，且避免反复冻融。（若实验在1-2周内做完，标准品母液及100×酶标抗体置于2-8℃保存；若实验为长时间跨度实验，建议将标准品母液及100×酶标抗体置于-20℃保存，以保证实验结果的稳定性）

实验步骤

所有标准品、样品建议复孔检测

1. **样本孵育：**每孔分别加入 50μL 不同浓度的标准品/预处理过的待测样品，同时加入抗试剂 50μL/孔（加抗试剂时请使用多道移液器），盖上封板膜在 37℃下孵育 30 分钟。孵育结束后，重复步骤 1 中的清洗步骤 3 次。
2. **二抗孵育：**每孔加入 100μL 酶标抗体工作液，轻轻混匀，盖上封板膜在 37℃下避光孵育 30 分钟。孵育结束后，重复步骤 1 中的清洗步骤 4 次。
3. **底物显色：**每孔首先加入 50μL 显色液 A，随后加入 50μL 显色液 B，轻轻混匀，盖上封板膜在 37℃下避光孵育 15 分钟。（加显色液时请使用多道移液器，根据样品和对照抗体的颜色，自行控制显色时间）
4. **终止反应：**待显色反应结束后，每孔加入 50μL 终止液（加终止液时请使用多道移液器），轻轻混匀，5 分钟内用预热完成的酶标仪在 450nm 处测吸

For research use only. Not for use in industrial procedures.

光值。

实验步骤汇总

1. 加标准品/样品和一抗，37°C反应 30 分钟，洗涤 3 次。
2. 加酶标二抗，37°C反应 30 分钟，洗涤 4 次。
3. 加显色液，37°C避光反应 15 分钟。
4. 加终止液，在 5 分钟内读数。

结果的计算

以浓度的对数为横坐标，OD 值为纵坐标，绘出四参数逻辑函数的标准曲线。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。

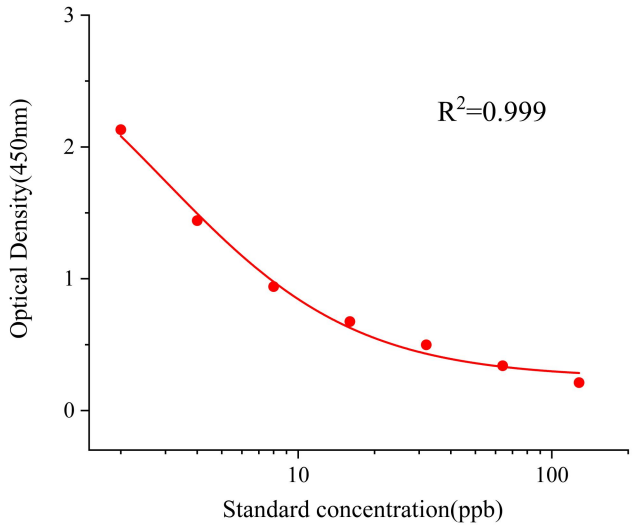
若样品 OD 值高于标准曲线上限，应适当稀释后重测并在计算样本浓度时乘以相应的稀释倍数。

示例数据

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。

标准品浓度 (ppb)	128	64	32	16	8	4	2	0
校正 OD 值	0.210	0.335	0.506	0.675	0.940	1.441	2.079	3.168

For research use only. Not for use in industrial procedures.



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。

精密度

批内精密度：三组已知的高、中、低浓度样品，进行二十次在同一个板块内精度评估。批内变异系数 CV%小于10%。

批间精密度：三组已知的高、中、低浓度样品，进行二十次在不同板块内精度评估。批间变异系数 CV%小于15%。

回收率

样本回收率：80%-120%

灵敏度

经样本测试，本试剂盒的检测灵敏度为2 ppb。

For research use only. Not for use in industrial procedures.

线性关系

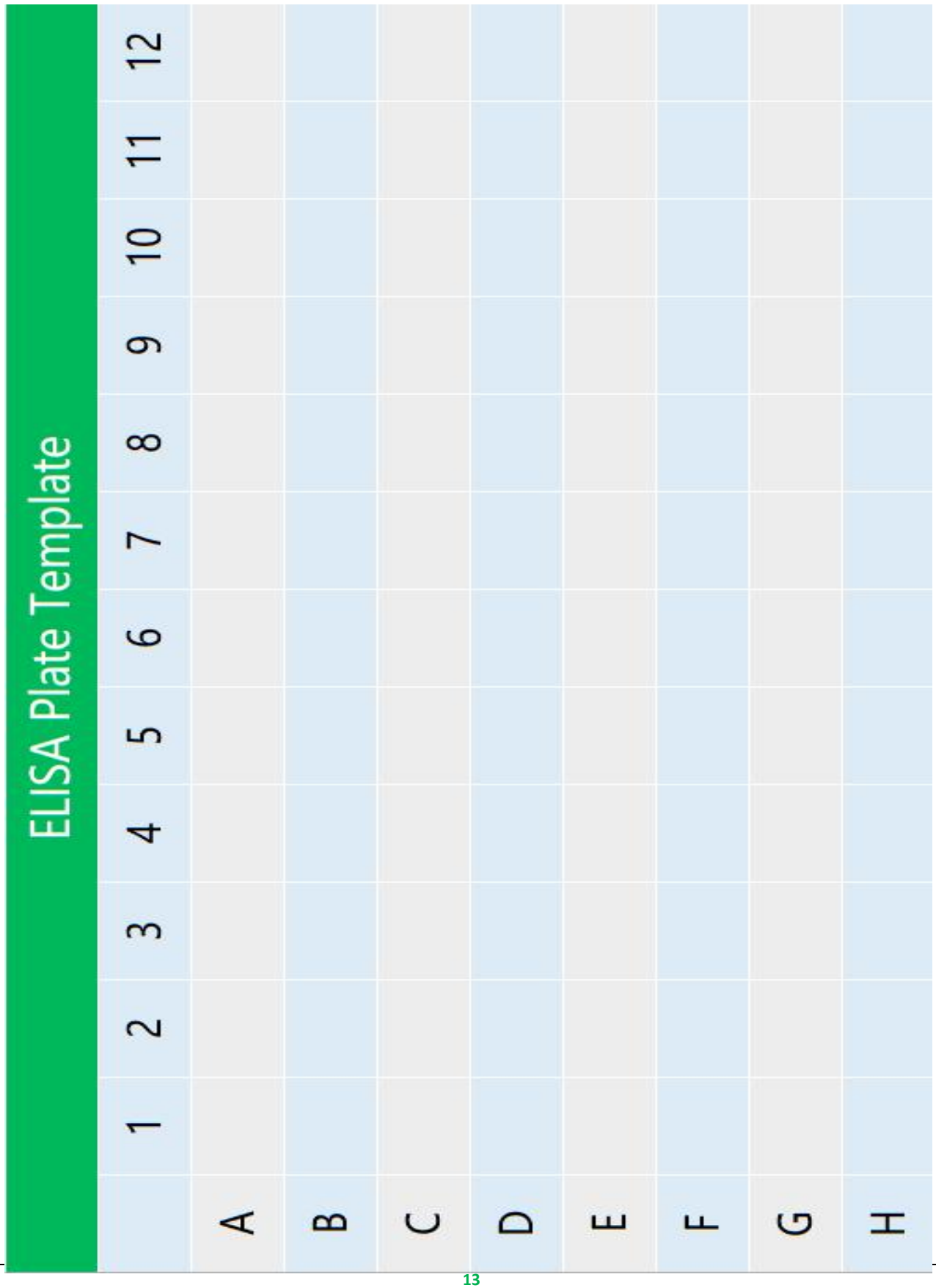
校准品剂量反应曲线相关系数 r 值，大于等于 0.999。

交叉反应性

大麻二酚：100%

参考文献

For research use only. Not for use in industrial procedures.



For research use only. Not for use in industrial procedures.

www.mlbio.cn

微信公众号

手机官网

企业:

上海酶联生物科技有限公司

办公地址：上海市松江区云凯路66号临港科技绿洲T2栋16楼

电话：4008-898-798　　传真：021-66980655　　E-MAIL：2881505699@qq.com

For research use only. Not for use in industrial procedures.