

Code No. MK126

研究用

TaKaRa

Rat Gla-Osteocalcin
High Sensitive EIA Kit

说明书

目 录

内 容	页 码
● 制品说明	1
● 制品内容	2
● 试剂盒外所需主要试剂及器材	2
● 保 存	2
● 使用目的	2
● 使用方法	2
● 性 能	3
● 测定时的基本资料	5
● 使用注意事项	10
● 关联产品	11

● 制品说明

骨钙素 (Osteocalcin: OC) 是分子中含有 2~3 个 γ -羧谷氨酸残基 (Gla) 的分子量约为 5,900 的维生素 K 依赖性非胶原骨蛋白, 是与钙离子结合的重要功能基团。其与骨钙的结合作用依赖于维生素 K。由于骨钙素是成骨细胞特异合成的, 目前骨钙素被认为是成骨细胞的标记之一。大鼠骨钙蛋白分子由 50 个氨基酸所组成, 人、牛及兔由 49 个氨基酸所组成, 其分子结构中 17、21、24 位点的 3 个谷氨酸发生羧化, 形成骨吸收陷窝, 促进其与骨基质的结合。

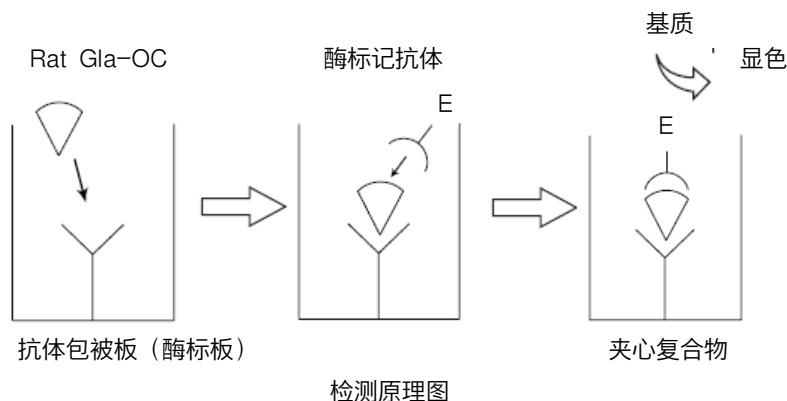
通常由成骨细胞特异合成的骨钙素具有 3 个羧化的谷氨酸后可吸收进入骨基质, 但在骨代谢过程中, 骨钙素在破骨细胞释放出的酶作用下, 从骨基质中溶出的骨钙素的 3 个 Gla 残基脱去羧基, 以 Glu 型从骨中游离出来释放到血液中, 因此骨钙素以 Gla 型和 Glu 型共存于血液中。另外骨钙素以全长、或不同长度片段的不同分子形式广泛存在。

<各种动物骨钙素的氨基酸序列>

		10	20	30	40	50
Human	1	YLYQWLGAPV	PYPDPLEPRR	EVCELNPDCD	ELADHIGFQE	AYRRFYGP-V
Bovine	1	YLDHWLGAPA	PYPDPLEPKR	EVCELNPDCD	ELADHIGFQE	AYRRFYGP-V
Rat	1	YLNNGLGAPA	PYPDPLEPHR	EVCELNPDCD	ELADHIGFQD	AYKRIYGTTV
Mouse	1	YL---GASV	PSPDPLEPTR	EQCELNPACD	ELSDQYGLKT	AYKRIYGITI
Chicken	1	YAQDSGVAGA	P-PNPLEAQR	EVCELSPPDCD	ELADQIGFQE	AYRRFYGP-V
Monkey	1	YLYQWLGAPA	PYPDPLEPKR	EVCELNPDCD	ELADHIGFQE	AYRRFYGP-V
Pig	1	YLDHGLGAPA	PYPDPLEPRR	EVCELNPDCD	ELADHIGFQE	AYRRFYGI-A

以往的 Rat Gla-OC/Glu-OC Competitive EIA Kit 是使用对修饰氨基酸残基有特异性的抗体捕获 All Gla 型和 All Glu 型骨钙素的竞争性 ELISA 试剂盒。由于修饰氨基酸残基特异性抗体与其他种属动物的骨钙素均可以反应, 使用竞争性 ELISA 法时, 就会与其他动物的骨钙蛋白发生交叉反应。另外竞争性 ELISA 的标准曲线范围只适用于高浓度检测, 不适用于含胎牛血清的细胞培养上清液中存在的微量骨钙素的检测。本制品使用了可抑制与牛、人和兔发生交叉反应的对大鼠骨钙蛋白 C 末端具有特异性的抗体形成固相抗体后作为捕获抗体。以特异性识别 Gla 型骨钙的酶标记抗体 (GlaOC4-30) 为检测抗体, 可高灵敏度地检测出大鼠 Gla 型骨钙素。因此可对含胎牛血清培养上清液中存在的微量大鼠骨钙素进行检测。

检测原理



● 制品内容

1. Antibody Coated Microtiterplate (96 wells : 8 wells×12 strips)	1 plate
包被了抗大鼠 OC 的单克隆抗体板	
2. Antibody-POD Conjugate (Lyophilized)	for 11 ml
含冻干的辣根过氧化物酶(POD)连接的 Gla-OC 单克隆抗体	
3. Standard	for 11 ml
Gla Osteocalcin 全长肽 16 ng	
4. Sample Diluent	11 ml×2
BlockAce-containing PBS (含防腐剂)	
5. Substrate Solution (TMBZ)	12 ml
3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine solution	

● 试剂盒外所需主要试剂及器材

- Wash and Stop Solution for ELISA without Sulfuric Acid (Code No. MK021)
洗液 (10×PBS: 50 ml×5 支、Tween 20: 3 ml)和反应终止液 (60 ml) *。
* 本制品是不含 1 N H₂SO₄的过氧化物酶反应终止液。
- 反应终止液也可以使用 1 N H₂SO₄。使用 1 N H₂SO₄时要注意。
注意: 1 N H₂SO₄ 具有腐蚀性, 接触到皮肤导致皮肤溃烂。接触到手和粘膜时, 立刻用大量流水冲洗后按照医嘱处理。
- 移液器、微量移液枪及枪头
- 酶标仪 (在 450 nm 处测定吸光值可达 3.5)

● 保 存: 4°C

● 使用目的

用于大鼠来源的生物样品中的 Gla 型骨钙素含量的测定。

● 使用方法

1. 检测样品

- 大鼠血清、腹水、细胞培养上清液及提取液。
- 检测样品 2~10°C 保存, 超过 12 小时检测时需冷冻保存。
- 检测样品稀释时用 (4) Sample Diluent 稀释后再进行检测。
- 大鼠血清作为检测样品时需 50~200 倍稀释后再进行检测。

2. 试剂的准备

- 抗体包被板 ((1) Antibody Coated Microtiterplate)
使用前放置至室温后再开封。
- 酶标抗体工作液
在 (2) Antibody-POD Conjugate 中加入 11 ml 蒸馏水使其溶解。
溶解后 4°C 保存 1 周性能稳定。1 周以上要 -20°C 保存。-20°C 保存 1 个月性能稳定, 且只能冻融一次。
- Rat Gla-OC 标准液
在 Rat Gla-OC 标准品中加入 1 ml 蒸馏水后使其溶解, 制备成 16 ng/ml 的 Rat Gla-OC 标准液。
使用时将 Rat Gla-OC 标准液用 (4) Sample Diluent 梯度稀释至 16.0、8.0、4.0、2.0、1.0、0.5、0.25 ng/ml。0 浓度使用 (4) Sample Diluent。
Rat Gla-OC 标准液 (16 ng/ml) 4°C 保存 1 周性能稳定, -20°C 保存 1 个月性能稳定, 且只能冻融一次。
- 基质液 ((5) Substrate Solution (TMBZ))
使用前放置至室温后可直接使用。使用前确认基质液颜色是否变为深蓝色。基质液与金属离子反应会显色, 注意不要混入自来水。多次分开使用时, 按照所需量提前分装。

· 反应终止液(Stop Solution)

可直接使用 Wash and Stop Solution for ELISA without Sulfuric Acid (Code No. MK021) 中的 Stop Solution。

本制品是不含 1 N H₂SO₄ 的过氧化物酶反应终止液。

注：溶液粘性大，添加后用 Plate mixer 充分混合。

· PBS 洗液 (含 0.1% Tween 20)

将 Wash and Stop Solution for ELISA without Sulfuric Acid (Code No. MK021) 中的 10× PBS (50 ml) 用蒸馏水稀释至 500 ml 后，再添加 500 μl Tween 20。充分混合后作为 PBS 洗涤液。

3. 操作方法

· 测定时进行 N=2 的平行反应。

· 试剂盒中的各试剂及检测样品使用前放置至室温，混合时避免产生气泡，混合均匀后再使用。

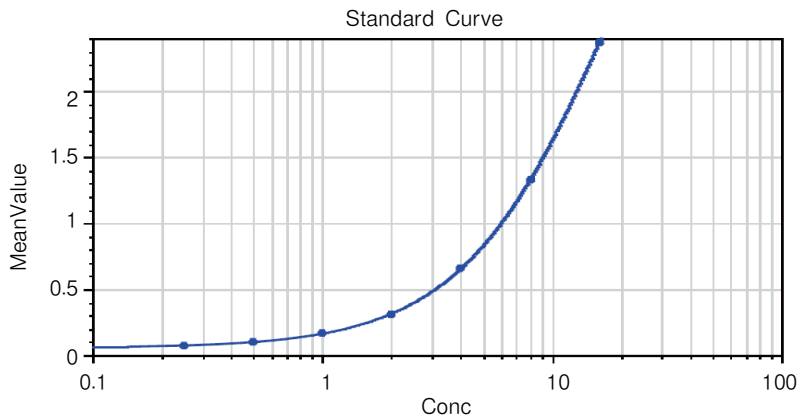
- 用微量移液枪在抗体包被板各孔中分别加入 100 μl 各浓度的 Rat Gla-OC 标准液和检测样品 (N=2)，室温 (20~30℃) 反应 1 小时。此时建议将样品预先准备于别的 96 孔板中，用 8 孔排枪快速地加入到抗体包被板中 (5 分钟内)。为提高检测值的可信性应将梯度稀释的 Rat Gla-OC 标准液添加在 96 孔板的第 1 列和第 12 列中。37℃ 加热条件下抗原性降低。(第一反应)
- 弃除反应液，用含 0.1% Tween 20 的 PBS 清洗 3 次后，用 8 孔排枪在各孔中分别加入 100 μl 的酶标抗体工作液，室温 (20~30℃) 反应 1 小时。(第二反应)
- 弃除反应液，用含 0.1% Tween 20 的 PBS 清洗 4 次后，用 8 孔排枪在各孔中分别加入 100 μl 的 (5) Substrate Solution (TMBZ)，室温 (20~30℃) 反应 10~15 分钟。(第三反应)
- 按照 Substrate Solution (TMBZ) 的添加顺序在各孔中分别加入 100 μl 的 Stop Solution 终止反应后充分混合。
- 蒸馏水作为对照调零，在 450 nm 处测定吸光度值。反应终止后 1 小时内显色稳定。
- 在半对数纸上作图，X 轴表示各 Rat Gla-OC 标准液的浓度，Y 轴表示吸光度值，绘制标准曲线后，根据检测样品的吸光度值可查出相应的 LN 浓度。

● 性能

1. 标准曲线 (Rat Gla-Osteocalcin High sensitive EIA Kit)

下面是代表性的标准曲线例。为了获得准确的检测结果，每次测定时需绘制标准曲线。

最低检出灵敏度：0.25 ng/ml



4-P Fit : $y = (A - D) / \{ 1 + (x/C)^B \} + D$

Parameter	A	B	C	D	R ²
Value	0.0577	1.32	18.6	5.19	1

Rat Gla-OC (ng/ml)	16.0	8.0	4.0	2.0	1.0	0.5	0.25	0.0
Absorbance A ₄₅₀	2.372	1.332	0.659	0.313	0.169	0.105	0.079	0.052

(显示时间：15 分钟)

2. 再现性

同时再现性实验 (n=16)

将人血清稀释为 3 种浓度后作为对照进行了再现性实验。

Sample	平均值 (ng/ml)	C.V.值 (%)
Control A	4.157	5.4
Control B	2.521	3.8
Control C	1.130	5.0

日差再现性实验 (n=3)

将 3 种浓度的对照进行了 3 天定量的再现性实验。

Sample	平均值 (ng/ml)	C.V.值 (%)
Control A	4.358	4.6
Control B	2.318	7.7
Control C	1.127	2.2

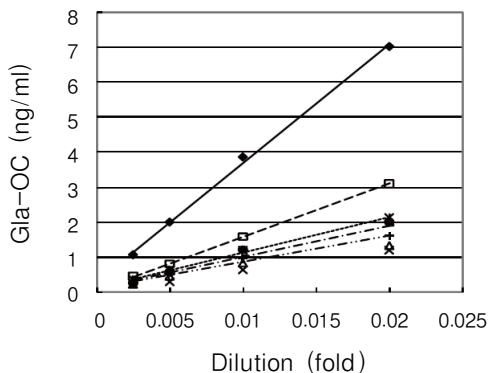
3. 添加回收试验

加入等量的各浓度检测样品后, 通过理论值和实测值对回收率进行了调查。

样品 A	样品 B	A+B 实测值	A+B 理论值	回收率 (%)
4.145	1.805	2.975	2.945	98.99
4.145	1.523	2.834	2.529	89.24
4.145	1.211	2.678	2.575	96.15
4.145	0.752	2.449	2.180	89.03
4.145	0.729	2.437	2.141	87.85
4.145	0.630	2.388	2.251	94.28
4.145	0.394	2.270	2.022	89.09
1.805	1.523	1.664	1.803	108.35
1.805	1.211	1.508	1.482	98.28
1.805	0.752	1.279	1.178	92.14
1.805	0.729	1.267	1.339	105.68
1.805	0.630	1.218	1.227	100.78
1.805	0.394	1.100	1.096	99.68
1.523	1.211	1.367	1.606	117.48
1.523	0.752	1.138	1.356	119.21
1.523	0.729	1.126	1.223	108.61
1.523	0.630	1.077	1.110	103.11
1.523	0.394	0.959	1.122	117.06
0.752	1.211	0.982	1.000	101.88
0.752	0.630	0.691	0.717	103.76
0.752	0.394	0.573	0.650	113.44
0.729	1.211	0.970	0.927	95.57
0.729	0.752	0.741	0.731	98.72
0.729	0.630	0.680	0.670	98.60
0.729	0.394	0.562	0.531	94.57
0.394	1.211	0.803	0.793	98.82

n=26 单位: ng/ml

4. 大鼠血清样品的稀释线性



- ◆ [1] $y=339.2x + 0.314$ $r^2=0.9981$
- [2] $y=154.01x + 0.0549$ $r^2=0.9999$
- △ [3] $y=62.393x + 0.1366$ $r^2=0.9825$
- × [4] $y=60.643x + 0.0115$ $r^2=0.9972$
- * [5] $y=101.04x + 0.1398$ $r^2=0.9975$
- [6] $y=99.475x + 0.1112$ $r^2=0.9848$
- + [7] $y=76.01x + 0.1267$ $r^2=0.992$
- [8] $y=88.525x + 0.1418$ $r^2=0.9994$

● 测定时的基本资料

1. 反复冻融和加热对检测样品的影响

通过反复冻融对 Rat Gla-OC 的浓度进行了调查。对大鼠血清、腹水及精制骨钙素在 25℃和 -80℃ 反复冻融，最后对每次溶解的检测样品进行了同时定量。同时，对 37℃加热 1 小时和 2 小时的检测样品也进行了定量。

冻融次数	精制骨钙素	大鼠血清[1]	大鼠血清[2]	大鼠腹水[1]
0 次	6.935	1.217	0.378	1.085
1 次	8.198	2.293	0.771	1.301
2 次	8.233	2.331	0.731	1.211
3 次	8.525	2.397	0.832	1.292
4 次	9.041	2.590	0.794	1.253
5 次	8.963	2.599	0.790	1.241

37℃加热	STD (8 ng/ml)	大鼠血清[1]	大鼠血清[2]	大鼠腹水[1]
1 小时	7.357	0.969	0.304	1.043
2 小时	7.150	0.934	0.306	1.217

单位: ng/ml

结果:

加热后多数样品的检测浓度偏低，可能是血中蛋白酶使骨钙素降解。样品间的冻融次数需一致。

2. 与各种动物血清的交叉反应

对各种动物血清的交叉反应进行了调查。

样品名	鸡		鸭		鸽子		火鸡	
稀释倍数	A450	ng/ml	A450	ng/ml	A450	ng/ml	A450	ng/ml
× 5	0.077	0.084	0.065	under	0.080	0.124	0.062	under
× 25	0.069	under	0.056	under	0.065	under	0.055	under
× 125	0.057	under	0.058	under	0.058	under	0.059	under
× 625	0.060	under	0.061	under	0.063	under	0.064	under

样品名	鹅		马		山羊		牛	
稀释倍数	A450	ng/ml	A450	ng/ml	A450	ng/ml	A450	ng/ml
× 5	0.073	under	0.199	1.035	0.086	0.193	0.157	0.762
× 25	0.069	under	0.112	0.431	0.074	0.035	0.090	0.234
× 125	0.062	under	0.082	0.148	0.065	under	0.066	under
× 625	0.062	under	0.065	under	0.063	under	0.056	under

样品名	人		食蟹猴		ICR小鼠		豚鼠	
稀释倍数	A450	ng/ml	A450	ng/ml	A450	ng/ml	A450	ng/ml
× 5	0.072	under	0.097	0.301	0.796	4.242	0.087	0.204
× 25	0.067	under	0.077	0.084	0.258	1.388	0.074	0.035
× 125	0.056	under	0.062	under	0.086	0.193	0.062	under
× 625	0.061	under	0.058	under	0.065	under	0.053	under

样品名	兔		人 No.11		人 No.12		人 No.13	
稀释倍数	A450	ng/ml	A450	ng/ml	A450	ng/ml	A450	ng/ml
× 5	0.299	1.621	0.156	0.755	0.084	0.171	0.080	0.124
× 25	0.189	0.972	0.095	0.283	0.069	under	0.072	under
× 125	0.116	0.463	0.065	under	0.058	under	0.064	under
× 625	0.078	0.098	0.060	under	0.061	under	0.057	under

样品名	人 No.14		人 No.15	
稀释倍数	A450	ng/ml	A450	ng/ml
× 5	0.495	2.671	0.080	0.124
× 25	0.127	0.548	0.067	under
× 125	0.077	0.084	0.057	under
× 625	0.063	under	0.057	under

<大鼠样品>

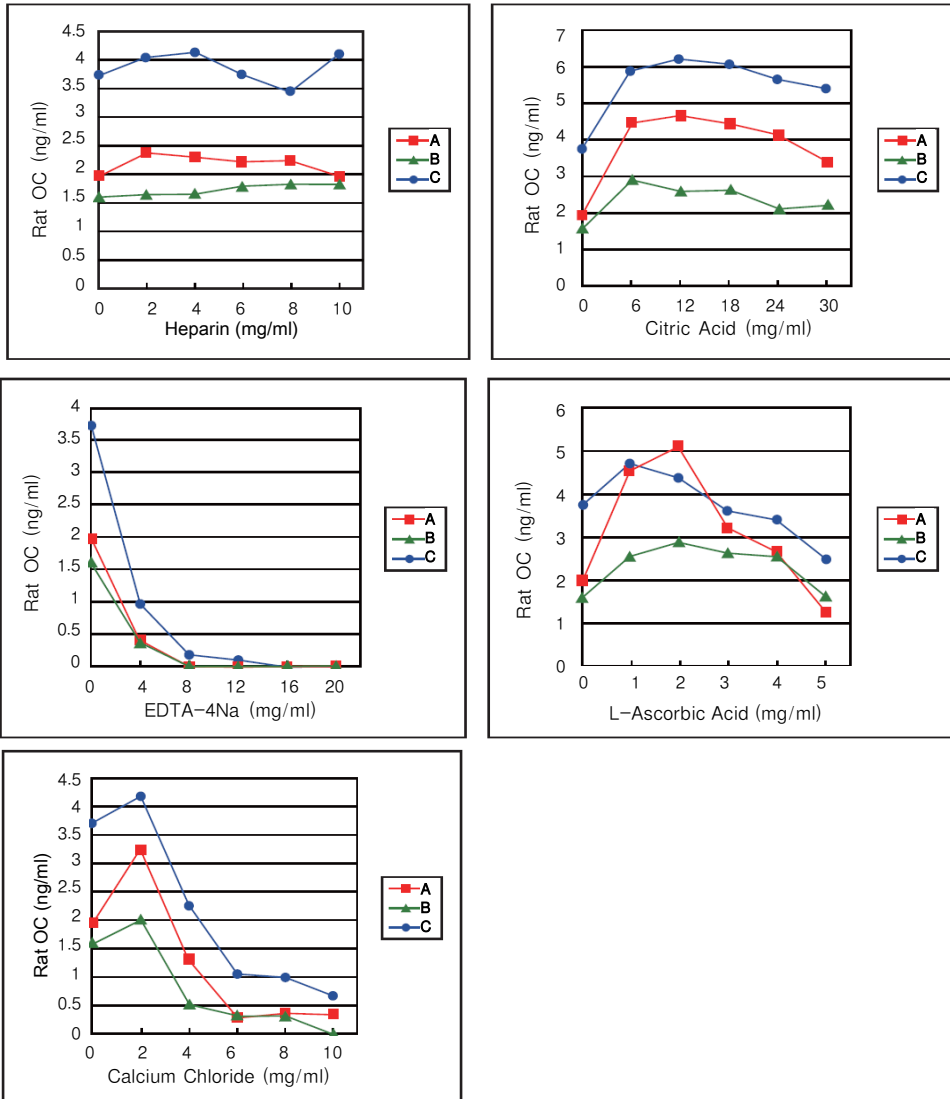
样品名	血清 No.13		血清 No.16		血清 No.17		血清 No.18	
稀释倍数	A450	ng/ml	A450	ng/ml	A450	ng/ml	A450	ng/ml
× 50	1.226	7.029	0.525	3.133	0.217	1.346	0.198	1.215
× 100	0.662	3.868	0.258	1.605	0.147	0.846	0.122	0.646
× 200	0.324	2.007	0.142	0.810	0.102	0.461	0.087	0.296
× 400	0.177	1.072	0.100	0.447	0.082	0.233	0.070	under
样品名	腹水 No.F2		腹水 No.F3		腹水 No.F4		腹水 No.F5	

稀释倍数	A ₄₅₀	ng/ml	A ₄₅₀	ng/ml	A ₄₅₀	ng/ml	A ₄₅₀	ng/ml
× 50	0.347	2.138	0.330	2.043	0.259	1.615	0.308	1.910
× 100	0.195	1.198	0.202	1.244	0.162	0.963	0.173	1.040
× 200	0.124	0.659	0.117	0.598	0.106	0.501	0.113	0.562
× 400	0.092	0.353	0.086	0.290	0.085	0.278	0.094	0.375

3. 共存物的影响

3 种不同浓度的 Rat OC 标准液 (A, B, C) 和供试物按照 9: 1 的体积添加后对反应体系的影响。表中所示供试物浓度为终浓度。

要注意 EDTA·4Na 和 CaCl₂ 对检测体系有影响。



4. Rat Gla-OC Competitive EIA Kit (Code No. MK121, discontinued) 与 Rat Gla-OC High Sensitive EIA Kit (Code No. MK126) 的测定值比较

以大鼠的5种血清和2种腹水作为检测样品, 使用 Rat Gla-OC 竞争性 ELISA 试剂盒与本制品进行比较。

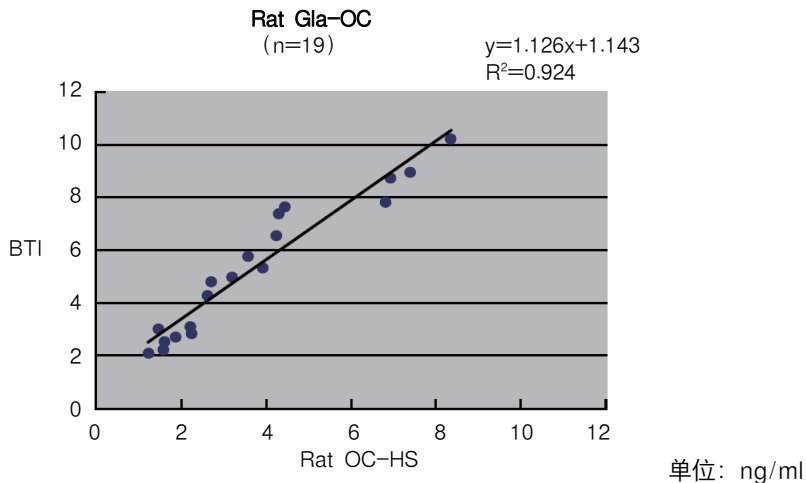
	Rat Gla-OC HS Kit (Code No. MK126)	Rat Gla-OC Competitive EIA Kit
稀释倍数	25倍稀释	原液
浓度 (原液换算)	ng/ml	ng/ml
血清 No.12	369	400
No.13	353	1100
No.15	294	316
No.16	137	426
No.17	84	710
腹水 No.1	102	216
No.2	116	368

结果:

使用两种试剂盒的测定值中有的检测样品测定值相当, 有的检测样品的测定值存在很大差异。测定值存在很大差异的原因可能是由于Gla型骨钙素分子种类存在差异所致。

5. 与其他公司制品的相关性

使用其他公司试剂盒和本试剂盒对19例大鼠血清样品进行了同时测定。使用的BTI公司试剂盒是对Gla、Glu 型骨钙素总量进行测定的试剂盒。



6. 溶血对样品的影响

采取大鼠血液样品后分成2部分, 一部分离心后取血清, 另一部分用注射器抽吸数次使其溶血, 离心后取血清。为找出适宜稀释倍数对所有样品分别10、20、40、80 倍稀释后进行了同时定量。同时也使用Rat Glu-Osteocalcin High Sensitive EIA Kit (Code No. MK146) 对样品进行了测定, 并对溶血对两种试剂盒的影响进行了调查。

下表是使用本制品对血清40倍稀释后的测定值, Code No. MK146是对血清20倍稀释后的测定值。

试剂盒	MK126 Rat Gla-OC		MK146 Rat Glu-OC	
稀释倍数	40倍稀释		20倍稀释	
检测样品	正常血清	溶血血清	正常血清	溶血血清
	血清浓度换算值(ng/ml)			
4周龄大鼠1	448.9	158.5	56.1	15.8
4周龄大鼠2	247.4	45.0	38.4	3.9
4周龄大鼠3	331.7	17.0	40.5	检测灵敏度以下
4周龄大鼠4	549.0	9.8	79.5	检测灵敏度以下

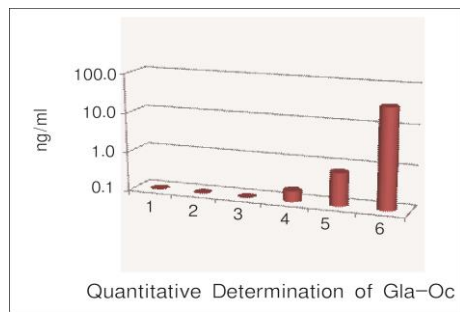
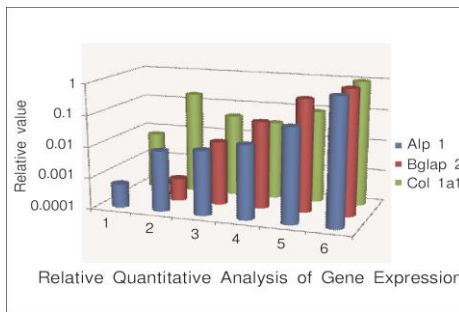
结果:

从以上测定结果可以看出, Gla型/Glu型骨钙素测定值受溶血的影响, 所有样品的测定值偏低。除溶血血清外的检测样品, 对其定量结果要考虑溶血因素。

7. 细胞培养上清液中的Gla型骨钙素监测例

在自然分化的4周龄大鼠骨髓细胞 (Code No. MK433; discontinued SD大鼠 雄性) 中添加成骨诱导剂后, 使用本试剂盒对诱导分化培养的骨髓细胞培养上清液中产生的Gla型骨钙素量进行了测定。同时从培养细胞中制备Total RNA后, 使用嵌合法Real Time PCR在mRNA水平上对3种基因 (ALP: 碱性磷酸酶、Bglap2: Bone Gla Protein = Osteocalcin、col1a1: I型胶原蛋白 α 1链) 同时进行了解析。

在各分化阶段的细胞培养上清液中都含有胎牛血清, 但因固相抗体对大鼠骨钙素具有特异性, 所以使用本试剂盒直接对原液进行测定。



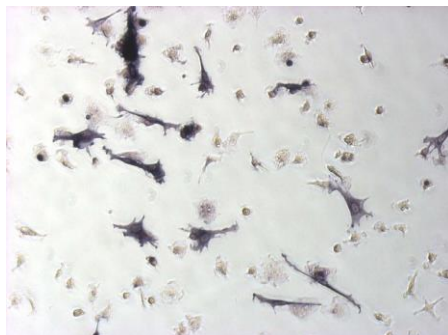
使用试剂: TB Green[®] Premix Ex Taq[™] II (Perfect Real Time)

PCR仪: Thermal Cycler Dice[™] Real Time System

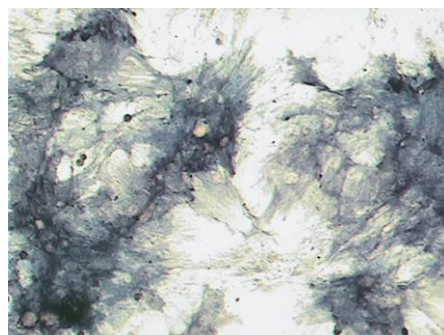
Primer: Primers designed by the Perfect Real Time Support System (col1a1除外)

检测样品			Real Time Assay mRNA 相对定量值			EIA培养上清 (ng/ml)
Stage			Alp 1	Bglap 2	Col 1a1	Rat Gla-OC
1	BM4W day4	骨髓细胞培养4天	0.0006		0.007	0.000
2	BM4W OB-S1	骨髓细胞培养10天 (自然分化)	0.009	0.0005	0.19	0.000
3	BM4W OB-L1	骨髓细胞培养9天+成骨诱导7天	0.012	0.011	0.044	0.000
4	BM4W OB-L2	骨髓细胞培养9天+成骨诱导10天	0.023	0.063	0.032	0.189
5	BM4W OB-L3	骨髓细胞培养9天+成骨诱导12天	0.1	0.4	0.092	0.692
6	BM4W OB-L4	骨髓细胞培养9天+成骨诱导13天	1.0	1.0	1.0	33.6

碱性磷酸酶染色结果



Stage 1 (培养 4 天)



Stage 5 (成骨诱导 10 天)

碱性磷酸酶染色使用了 TRACP & ALP double-stain Kit (Code No. MK300)

8. 大鼠血清测定例

分别对新生大鼠和高龄意大利大鼠的血清中的Glu（不活性型）和Gla（活性型）进行了数周的监测。为找出适宜稀释倍数，对新生大鼠血清20和60倍稀释、意大利大鼠血清10倍和30倍稀释后进行了测定。Glu和Gla测定值的换算采用的是在标准曲线范围内的稀释倍数。表内数字是乘以稀释倍数后的换算浓度。

新生大鼠	MK126					MK146				
	Rat Gla-OC EIA Kit					Rat Glu-OC EIA Kit				
周龄	稀释倍数	雄性 No.1	雄性 No.2	雌性 No.1	雌性 No.2	稀释倍数	雄性 No.1	雄性 No.2	雌性 No.1	雌性 No.2
3周	×20	12.4	—	231.5	—	×20	0.9	—	25.1	—
4周	×60	275.2	—	1389.2	—	×60	33.6	—	62.0	—
5周	×60	277.6	—	375.3	—	×60	40.1	—	48.2	—
6周	×60	445.0	380.6	143.7	372.5	×60	71.8	52.2	20.1	43.1
7周	×60	235.3	357.0	178.3	494.6	×60	40.0	52.5	26.0	56.5
8周	×60	351.4	356.2	530.1	840.2	×60	64.5	48.0	61.4	74.5
9周	×60	180.5	272.1	301.9	154.0	×60	28.5	43.4	44.0	23.2

意大利大鼠

新生大鼠	MK126					MK146				
	Rat Gla-OC EIA Kit					Rat Glu-OC EIA Kit				
周龄	稀释倍数			雌性 No.R1	雌性 No.R2	稀释倍数			雌性 No.1	雌性 No.2
21周	×30			199.7	79.8	×10			10.2	13.3
25周	×10			52.3	55.2	×10			5.3	5.7
29周	×10			9.1	29.5	×10			1.6	3.2
33周	×10			80.9	38.8	×10			7.8	4.0

结果:

因新生大鼠的可采血时间在3周龄，所以没有对1~2周龄的血清样品进行测定。从新生至6周龄大鼠血清中的Gla/Glu骨钙素测定值均高，说明骨代谢旺盛处于活性状态。同时我们预测骨髓造血干细胞向成骨细胞的分化、间充质细胞向成骨细胞的分化也处于旺盛时期。

● 使用注意事项

1. 请使用同一批号的试剂盒和试剂，不同批号的试剂盒组份和试剂不要混用。
2. 试剂在保存或反应时要避免强光照射。
3. (5) Substrate Solution (TMBZ) 和 Stop Solution 不能使用带有金属配件的移液枪。
4. (5) Substrate Solution (TMBZ) 和 Stop Solution 避免直接接触手和粘膜。
5. 避免使用着色的 Substrate Solution (TMBZ)。
6. 反应时由于受反应时间和温度的影响，每次测定应同时绘制标准曲线。
7. 使用血液样品时要充分注意。

● 关联产品

Wash and Stop Solution for ELISA without Sulfuric Acid (Code No. MK021)

Rat Glu-Osteocalcin High Sensitive EIA Kit (Code No. MK146)

Osteoblast Inducer Reagent (for animal cell) (Code No. MK430)

TRACP & ALP double-stain Kit (Code No. MK300)

TRACP & ALP Assay Kit (Code No. MK301)

TB Green is a registered trademark of Takara Bio Inc.

Premix Ex Taq and Thermal Cycler Dice are trademarks of Takara Bio Inc.

注意

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经Takara Bio Inc.书面许可授权或批准，不得制造、许诺销售、销售、进口Takara产品，或者使用Takara产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权，请联络我们，或访问我们网站www.takara-bio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术（北京）有限公司翻译制作，最新版本文件请参考 Takara Bio Inc.网站。为正确使用 Takara 产品，您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

技术咨询热线：

0411-87641685, 87641686
4006518761, 4006518769

TAKARA BIO INC.

URL: <http://www.takarabiomed.com.cn>