

小鼠抗体效价 ELISA 检测试剂盒

【间接法酶联免疫法】

产品简介：

本试剂盒是采用间接酶联免疫方法检测小鼠血清、血浆或其它相关生物液体中鼠源抗体的效价水平,检测时,先将抗原包被在酶标板微孔板上,洗去游离抗原,加入封闭液封闭未结合的微孔,加入稀释好小鼠血清,加入 HRP 羊抗小鼠 IgG,最后加入单组份 TMB 底物液。TMB 底物液在 HRP 催化下显色,加入终止液终止显色后,在酶标仪 OD₄₅₀/OD₆₃₀ 读取吸光值,吸光值大小与待检测小鼠 IgG 浓度呈正相关,根据吸光值,可判断出待检样品中小鼠抗体效价水平。

适用范围：

本产品适用于体外检测小鼠血清、血浆或其它相关生物液体中鼠源抗体的效价水平。

主要组分：

组分名称	规格	保存条件	数量
ELISA 酶标板	96T	-20℃	1
浓缩 HRP 羊抗小鼠 IgG (100×)	120ul	-20℃	1
通用稀释液	30ml	4℃	1
包被液	30ml	4℃	1
封闭液	30ml	4℃	1
浓缩洗涤液 (25×)	30ml	4℃	1
TMB 底物液	12ml	4℃	1
反应终止液	12ml	4℃	1
酶标板覆膜			5
产品说明书			1

特别说明：

- 1.打开包装后请及时检查所有物品是否齐全完整。
- 2.一周内使用可存于 4℃,需长时间保存或多次使用请按保存条件存放。
- 3.有效期 6 个月。

试验所需自备物品:

- 1.酶标仪(450nm 波长滤光片)
- 2.高精度移液器,EP 管及一次性吸头:0.5-10μL,2-20μL,20-200μL,200-1000μL

3.37℃恒温箱，双蒸水或去离子水

4.吸水纸

检测前准备工作:

1.请提前 20 分钟从冰箱中取出试剂盒，平衡至室温。

2.**洗涤液配制**：将浓缩洗涤液用双蒸水稀释(1:25)。未用完的放回 4℃。从冰箱中取出的浓缩洗涤液可能有结晶，属于正常现象，可用 40℃水浴微加热使结晶完全溶解后再配制洗涤液（加热温度不要超过 50℃，使用时洗涤液应为室温）。当日使用。

3. **HRP 羊抗小鼠 IgG 工作液**：实验前计算当次实验所需用量（以 **100μL/孔**计），用**通用稀释液稀释**实际配制时应多配制 100-200μL。

洗涤方法:

1.自动洗板机：每孔加入洗涤液 350μL，注入与吸出间隔 60 秒。

2.手工洗板：甩尽孔内液体，在洁净的吸水纸上拍干，每孔加洗涤液 350μL，浸泡 1-2 分钟，吸去（不可触及板壁）或甩掉酶标板内的液体，在厚的吸水纸上拍干。

操作步骤:

实验开始前，各试剂均应平衡至室温；试剂或样品配制时，均需充分混匀，并尽量避免起泡。

1.包被：将抗原用包被液按照适宜浓度稀释(建议 1ug/ml)，每孔 100μL，给酶标板覆膜，4℃过夜孵育。

2.封闭：弃去孔内液体，甩干，洗板 3 次，每次浸泡 1-2 分钟，大约 350μL /每孔，甩干并在吸水纸上轻拍将孔内液体拍干。立即每孔加入 150ul 封闭液，给酶标板覆膜，37℃孵育 60 分钟。

3.一抗孵育：弃去孔内液体，甩干，洗板 3 次，每次浸泡 1-2 分钟，大约 350μL /每孔，甩干并在吸水纸上轻拍将孔内液体拍干。加入事先梯度稀释好的小鼠抗体，100ul/孔，给酶标板覆膜，37℃孵育 60 分钟。

4.二抗孵育：弃去孔内液体，甩干，洗板 3 次，每次浸泡 1-2 分钟，大约 350μL /每孔，甩干并在吸水纸上轻拍将孔内液体拍干。立即每孔加入配好的 **HRP 羊抗小鼠 IgG 工作液** 100μL（在使用前 15 分钟内配制），注意不要有气泡，加样时将样品加于酶标板底部，尽量不触及孔壁，轻轻晃动混匀。给酶标板覆膜，37℃孵育 60 分钟。为保证实验结果有效性，每次实验请使用新配制的二抗。

4. 弃去孔内液体，甩干，洗板 3 次，每次浸泡 1-2 分钟，大约 350μL /每孔，甩干并在吸水纸上轻拍将孔内液体拍干。每孔加 **TMB 底物溶液 100μL**，酶标板加上覆膜 37℃避光孵育 15 分钟左右（根据实际显色情况酌情缩短或延长，但不可超过 30 分钟。当标准孔出现明显梯度时，即可终止）。

5.每孔加终止液 100μL，终止反应，此时蓝色立转黄色。终止液的加入顺序应尽量与底物液的加入顺序相同。

6.立即用酶标仪在 450nm 波长测量各孔的光密度（OD 值）。应提前打开酶标仪电源，预热仪器，设置好检测程序。

7.实验结束后将未用完的试剂按规定的保存温度放回冰箱保存至有效期结束。

注意事项：

- 1.保存：试剂盒中各试剂请按说明书提示合理存放。在储存及温育过程中避免将试剂暴露在强光中。所有试剂瓶盖须旋紧以防止蒸发和微生物的污染，否则可能会出现错误的结果。
- 2.酶标板：刚开启的酶标板孔中可能会有少许水样物质，此为正常现象，不会对实验结果造成任何影响。暂时不用的板条应拆卸后放入备用铝箔袋，按推荐温度存放！
- 3.加样：加样或加试剂时，第一个孔与最后一个孔的加样时间间隔如果太大，将会导致不同的“预温育”时间，从而明显地影响到测量值的准确性及重复性。每次的加样时间最好控制在 10 分钟内。推荐设置复孔。
- 4.温育：为防止样品蒸发，实验时必须给酶标板覆膜；洗板后应尽快进行下步操作，避免酶标板处于干燥状态；严格遵守给定的温育时间和温度。
- 5.洗涤：洗涤过程中反应孔中残留的洗涤液应在吸水纸上拍干，勿将滤纸直接放入反应孔中吸水。在读数前要注意清除底部残留的液体和手指印，以免影响酶标仪读数。
- 6.显色时间的控制：加入底物后请定时观察反应孔的颜色变化（比如每隔 5 分钟），如梯度已很明显，请提前加入终止液终止反应，避免颜色过深影响酶标仪读数。
- 7.底物：底物请避光保存，在储存和温育时避免强光直接照射。
- 8.混匀：充分轻微混匀对反应结果尤为重要，最好使用微量振荡器(使用最低频率)，如无微量振荡器，可在反应前手工轻轻敲击酶标板框混匀。
- 9.安全：试验中请穿着实验服并带乳胶手套做好防护工作。特别是检测血液或者其他体液样品时，请按国家生物实验室安全防护条例执行。
- 10.不同批号的试剂盒组份不能混用（洗涤液和反应终止液除外）
- 11.试验中所用的 EP 管和吸头均为一次性使用，严禁混用，否则将影响试验结果！

***本试剂仅供实验室研究使用**