

鼠单抗 Ig 类/亚类鉴定用 ELISA 试剂盒（6 种）

产品简介

本试剂盒利用双抗体夹心法鉴定小鼠淋巴细胞杂交瘤培养上清中单克隆抗体或特异亲和纯化的单克隆抗体的类和亚类（可区分出 IgG1\IgG2a\IgG2b\IgG3\IgM\IgA）。采用小鼠抗体共有位点的二抗包被微孔板，与加入的培养上清中的小鼠抗体结合，再加入 HRP 标记的抗小鼠各类、亚类的抗体来分别反应，最后用 TMB 底物系统显色并用稀硫酸终止，再通过酶标仪检测吸光度来判断被测单克隆抗体的类或亚类。亦可通过肉眼观察颜色深浅直接判断结果。

产品优势：

高灵敏度、高特异性、无交叉反应，检测样品范围广泛结果容易判定。

主要组分：

组分名称	组分规格	组分数量
包被抗小鼠抗体共位点酶标板	96 孔	2 块
亚型抗体酶标二抗（即用型）	2ml/瓶*2	12 瓶
阳性对照(+)	1.5ml	1 管
阴性对照(-)	1.5ml	1 管
通用稀释液	30ml	2 瓶
单组份 TMB 底物液	15ml	2 瓶
TMB 底物终止液	15ml	1 瓶
25×浓缩洗涤液	30mL	2 瓶
封板膜		5 张
产品说明书		1 份

使用范围：

用于鉴定细胞上清及腹水中小鼠单克隆抗体 Ig 类、亚类\亚型的鉴定以及相关内容的研究。

储存条件：

不开启 2-8℃避光保存效期 1 年。不正确存放或过于频繁开启有可能使有效期缩短。

使用方法：

1、将 ELISA 试剂盒各组分恢复室温（大约 30 分），同时用纯水将 25x 洗涤液配成工作液（每份浓缩洗涤液加 24 份纯水）。

2、取出酶标板；扣取适量酶标板条，每个标本需要 6 孔，阳性对照 6 孔，阴性对照 6 孔。多余的用自封袋保存，记得放入干燥剂。

3、将标本检测孔每孔先加入标本稀释液各 50 μ l。然后将 50 μ l 细胞培养上清（或特异亲和纯化的抗体）再加入酶标微孔板，每个标本加 6 孔；阳性对照和阴性对照孔不加标本稀释液，各加 6 孔每孔 100 μ l。贴上封板膜 37 $^{\circ}$ C 温育 30 分钟。

4、反应完毕后弃去板内液体，洗板 5 遍后在不掉纤维的吸水材料上拍干或机洗 5 遍。再在每个标本的 6 孔中分别加入 6 种酶标二抗各 100 μ l，通用阳性、阴性对照的各孔也一样。在加样图上或酶标板上做好标记。贴上封板膜 37 $^{\circ}$ C 温育 30 分钟。

5、吸弃板内液体，洗板 5 遍后在不掉纤维的吸水材料上拍干或机洗 5 遍。每孔分别加入单组份 TMB 底物液 100 μ l，封板膜贴板避光 37 $^{\circ}$ C 显色 20 分钟。

6、本试剂盒特异性好，可肉眼观察显色结果，确定显色孔所对应的酶标二抗判断此标本的 Ig 类或亚类。也可将反应终止液（每孔 50 μ l）终止反应后用酶标仪 450nm 测定波长，630nm 参考波长双波长测定结果，参看高值孔所对应的酶标二抗判定此标本的 Ig 类或亚类(阳性对照 OD 一般不小于 0.8，阴性对照一般不高于 0.15，阳性判定标准：样品 OD 大于阴性 OD+0.15，阴性 OD 低于 0.05 按 0.05 算)。

注：单抗属于杂交瘤融合得来，存在一定比例的变异，另外，如果待检样品浓度太高也容易造成背景偏高，原则上以高值孔对应的亚类为准！

注意事项：

1. 本试剂盒实际寿命远比标示的有效期更长，超过有效期后可能仍可使用，但是不建议您使用，请您在有效期内使用；超过有效期使用产品产生的问题不在售后范畴。

2. 由于腹水成分十分复杂，本试剂盒不建议用于腹水检测，如果需要检测腹水，请购买本公司其他试剂盒；如果确实需要用本试剂盒检测腹水亚型，建议将腹水稀释 1-5 万倍，同时使用自包被的抗原板子替代本试剂盒中的酶标板，此种情况下本试剂盒中的阳性对照可能不能正常工作。

3. 手工洗板时，洗液要加满板孔，浸泡 10 秒然后弃尽，最后要拍干净。加入的酶标二抗温育后，要把酶标液吸净，不要直接甩出，这个在手工洗板时对结果很重要。

4. 一次没用完的板子要带干燥剂放自封袋封好，随盒存放。

5. 拿放加样后的板子不要剧烈抖动，以免孔间交叉污染出现错误结果。
6. 本试剂一般不会出现两个阳性，但出现两个阳性的现象现实中是真实存在的，一般会取高 OD 值判为阳性，出现这种情况有多重原因：
 - 1) 培养的细胞中有“饲养细胞”残留；
 - 2) 由于单抗研制存在人工干预步骤因此抗体本身有可能会存在亚类结构上的轻微变异；
 - 3) 样品为非特异亲和纯化的抗体或样品是腹水，
 - 4) 上清出现少量污染；
 - 5) 实验操作粗放；
 - 6) 加错试剂；
 - 7) 样品中抗体浓度太高。