



Human IL-1 β 检测试剂盒 (酶联免疫吸附法)

产品货号: PCDBH0247

规格: 96T / 盒

检测范围: 3.9pg/mL—250pg/ml

工作原理

Interleukin-1 β , IL-1 β , 白介素 1 β 。在免疫调节和炎症反应过程中起中心作用。类风湿、结肠炎等病症也和 IL-1 β 的产生过多有关。IL-1 α 和 IL-1 β 有 25% 的同源性。合成 IL-1 β 的细胞很广泛, 包括单核细胞、巨噬细胞、星形细胞、NK 细胞、角化细胞、内皮细胞等。两者合成时都是 31KDa 的前体, 经剪切后成为 17.5KDa 的成熟蛋白质。IL-1 β 前体在细胞内合成, 并无生物学活性。被 IL-1 β 转化酶 (ICE) 剪切为成熟形态后排出到细胞外。人的 IL-1 β 的前体有 269 个氨基酸, 经 IL-1 β 转化酶剪切后, 形成 153 个氨基酸的活性蛋白质

本试剂盒采用的是双抗夹心法, 预包被板为人 IL-1 β 单克隆抗体, 检测相为生物素标记的 IL-1 β 单克隆抗体, 反应体系中加入生物素放大系统, 以增加反应的强度和灵敏度。结果判读模式利用 TMB 显色底物与 HRP 酶反应, 形成蓝色, 并在 TMB 终止液的反应下转变成黄色, 利用酶标仪判读 450nm 波长, 获得分光光度 OD 值, 通过对 OD 值与浓度值的正相关关系, 换算出样本中的 IL-1 β 浓度

试剂盒组份列表

内容	规格	数量
Human IL-1 β 预包被板	96T / Kit	1 板
Human IL-1 β 重组蛋白标准品	1ng / 支	2 支
Human IL-1 β 生物素抗体 (100X)	130ul / 支	1 支
SA-HRP (100X)	130ul / 支	1 支
样品稀释液	20ml / 瓶	1 瓶
抗体稀释液	12ml / 瓶	1 瓶
SA-HRP 稀释液	12ml / 瓶	1 瓶
TMB 显色液	10ml / 瓶	1 瓶
TMB 终止液	10ml / 瓶	1 瓶
洗涤缓冲液 (25X)	20ml / 瓶	1 瓶
封板膜		4 张

使用前请先检查试剂盒中的试剂组份和数量是否与本表格内容一致

实验涉及设备

1. 96 孔板酶标分析仪 (450nm)
2. 37 $^{\circ}$ C 恒温培养箱
3. 可调节移液器 / 多通道移液器及吸头
4. 去离子水 (用于稀释洗涤液 25X, 稀释至 1X 使用)

注意事项

1. TMB 显色液为无色透明液体, 若发现颜色异常或出现浑浊度, 及时与我司联系;
2. 严格避免操作过程中酶标板的干燥, 预防导致板孔的蛋白活性丢失或引起假阳性;
3. 为避免交叉污染, 请勿重复使用吸头或试管;
4. 禁止使用不同批次的试剂盒内试剂组份;
5. 使用前计算好需要的酶标板条数, 剩余数量请及时放置 2~8 $^{\circ}$ C 干燥保存;
6. 封板膜因粘性较强, 以便更好的封闭板孔, 在粘贴和揭开时, 请勿过力, 防止孔内液体因急剧震荡而溅出;
7. 试剂盒中的浓缩液在使用前需提前 (1 小时以内) 配制成工作液, 为避免检测效价下跌, 建议按照每次使用量稀释;
8. 试剂盒中的各组分应在使用前恒温至室温。

样品的准备和保存

样本在采集时, 若样本量较大, 需第一时间根据每次使用量分装, 冷冻保存, 保存时请勿反复冻融;

血清/血浆样本: 按照常规样本收集方法收集后, 短期保存, 应立即分装后放置 2-8 $^{\circ}$ C 冷藏保存; 长期保存, 应立即分装后放置 -20 $^{\circ}$ C 冷冻保存;

细胞裂解液: 对于贴壁细胞, 去除培养液, 用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗一遍。加入适量裂解液, 用枪吹打数下, 使裂解液和细胞充分接触。通常 10 秒后, 细胞就会被裂解。对于悬浮细胞, 离心收集细胞, 用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗一遍。加入适量裂解液, 用枪吹打把细胞吹散, 用手指轻弹以充分裂解细胞。充分裂解后, 10000—14000g 离心 3-5 分钟, 取上清。立即分析或分装后 -20 $^{\circ}$ C 冷冻保存
尿液: 用无菌管收集, 离心 20min 左右 (2000-3000rpm/min), 收集上清, 如有沉淀形成, 应再次离心。

样品稀释一般原则

因试剂盒检测范围有限, 用户使用前须估计样品待测指标的含, 决定适当的稀释倍数, 以使稀释后样品中待测指标的浓度处于 ELISA 试剂盒的最佳检测范围。根据待测因子含量高、中、低的不同, 分别采取不同的稀释方案。

试剂的准备和保存

一、 HumanIL-1 β 重组抗原标准品的稀释和使用:

- 1.1 配制 1000pg/ml 标准品: 在使用前半小时左右, 取 1ml 样品稀释液加入标准品管内, 盖好盖后静置 10min 以上, 然后反复颠倒/搓揉以助其溶解, 获得 10000pg/ml 的标准品液
- 1.2 配制 250pg/ml 标准品: 取 EP 管, 标记为 250pg/ml, 取 750ul 样品稀释液,

并加入 1000pg/ml 标准品溶液 250ul, 充分混匀, 获取 250pg/ml 标准品溶液:

- 1.3 配制 125pg/ml~3.9pg/ml 标准品: 准备 6 只 EP 管, 每管加入 0.3ml 样品稀释液, 分别标记为: 125pg/ml、62.5pg/ml、31.3pg/ml、15.6pg/ml、7.8pg/ml、3.9pg/ml, 取 0.3ml 250pg/ml 的标准品溶液加入标记 125pg/ml 的管中, 混匀后梯度取出 0.3ml, 加入下一只 EP 管中, 混匀, 以此类推:

注意: 已稀释 Human IL-1 β 标准品溶液 (1000pg/ml), 需要在 12h 以内使用完, 若时间较长 (48h 以内), 则放置 -20 $^{\circ}$ C 保存, 但不得反复冻融。

二、 Human IL-1 β 生物素抗体工作液的准备:

- 2.1 根据每孔需要 100ul 计算总的用量 (实际配制时应多配制 100-200ul)。
- 2.2 按 Human IL-1 β 生物素抗体 (100X) 1ul 加入抗体稀释液 99ul 配制工作液。

三、 SA-HRP 工作液的准备:

- 3.1 根据每孔需要 100ul 计算总的用量 (实际配制时应多配制 100-200ul)。
- 3.2 按 SA-HRP (100X) 1ul 加 SA-HRP 稀释液 99ul 配制工作液。

实验步骤

1. 根据待检测样品数量, 计算好所需使用的板孔数量, 增加 1 孔为 TMB 显色空白对照孔。总数=样本数+7 (标准品)+1 (空白孔, 若双波长判读则无需设置)。做复孔检测的数量 X2.其余板条及时包装好放回冰箱密封干燥保存;
2. 重组抗原标准品, 利用样品稀释液稀释出浓度梯度为: 250pg/ml、125pg/ml、62.5pg/ml、31.3pg/ml、15.6pg/ml、7.8pg/ml、3.9pg/ml;
3. 在第一排中依次加入标准品浓度梯度, 第一孔为零孔 (样品稀释液), 100ul / 孔; 依次加入待检测样品, 100ul / 孔 (若样本浓度过高可利用样品稀释液稀释, 计算时检测结果乘以稀释倍数);
4. 利用封板膜封好, 37 $^{\circ}$ C 反应 90min;
5. 甩去封板膜中的液体, 并利用吸水纸拍干 (不洗涤), 加入准备好的 Human IL-1 β 生物素标记抗体工作液 (空白孔不加)。100ul / 孔, 贴好封板膜, 37 $^{\circ}$ C 反应 60min;
6. 利用 1X 洗涤缓冲液 300ul / 孔, 洗涤 3 次, 最后一次洗涤完毕后拍干反应板;
7. 将 SA-HRP 工作液按照 100ul / 孔加入板孔 (空白孔不加), 贴好封板膜, 37 $^{\circ}$ C 反应 30min;
8. 利用 1X 洗涤缓冲液 300ul / 孔洗板 5 次;
9. 90ul / 孔加入 TMB 显色液, 37 $^{\circ}$ C 避光反应 7-30min (根据实验室具体环境确认最佳显色时间, 可初步根据标准品梯度颜色 (蓝色) 呈现线性梯度来判断)
10. 按照 100ul / 孔加入 TMB 终止液, 孔内液体颜色由蓝色变为黄色;
11. 用酶标仪在 450nm 波长处检测 OD 值;
12. 计算时, 以标准品浓度梯度作为 X 轴, OD 值 (减去空白孔值) 作为 Y 轴, 制作标准曲线, 计算出样品值 (减去空白孔值) 对应的浓度值。

注意: 在样本加入前处理时, 涉及的样本稀释比例, 在此基础上需要按照对应倍数换算回来。

上海磐超生物科技有限公司

上海市闵行区沈杜公路 3872 号源发展 F 楼 C401 室 电话: 021-31550304

邮箱: techsupport@pc-biotech.com

网址: www.pc-biotech.com