



Mouse IL-6 检测试剂盒 (酶联免疫吸附法)

产品货号: PCDBM0170

规格: 96T / 盒

检测范围: 15.6pg/ml—1000pg/ml

工作原理

白介素-6 (IL-6), 是一种多功能细胞因子。在体内免疫反应调节, 血细胞的增生、防御、急性期反应中起重要作用。

本试剂盒采用的是双抗夹心法, 预包装板为小鼠 IL-6 单克隆抗体, 检测相为生物素标记的 IL-6 多克隆抗体, 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 终止液的作用下转变成黄色, 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-6 浓度

试剂盒组份列表

内容	规格	数量
Mouse IL-6 预包装板	96T / Kit	1 板
Mouse IL-6 重组蛋白标准品	10ng / 支	2 支
Mouse IL-6 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

- 96 孔板酶标分析仪 (450nm)
- 37℃ 恒温培养箱
- 可调节移液器 / 多通道移液器及吸头
- 去离子水 (用于稀释洗涤液 25X, 稀释至 1X 使用)

注意事项

- 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;
- 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;
- 为避免交叉污染, 请勿重复使用吸头或试管;
- 禁止使用不同批次的试剂盒内试剂组份;
- 使用前计算好需要的酶标板条数量, 剩余数量请及时放置 2~8℃ 干燥保存;
- 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;
- 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;
- 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℃ 冷藏保存; 长期保存, 应立即分装后放置 -20℃ 冷冻保存;

细胞上清液/组织匀浆: 离心去除沉淀后, 立即分析检测或分装后 -20℃ 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℃ 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里, 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、 Mouse IL-6 重组抗原标准品的稀释和使用:

- 配制 10000pg/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
- 配制 1000pg/ml 标准品: 取 900ul 样品稀释液, 加入 100ul 配制好的 10000pg/ml 标准品液, 混匀, 获取 1000pg/ml 标准品液
- 配制 500pg/ml~15.6pg/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: 500pg/ml、250pg/ml、125pg/ml、62.5pg/ml、31.3pg/ml、15.6pg/ml, 取 0.3ml 1000pg/ml 标准品溶液加入标记 500pg/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 Mouse IL-6 标准品溶液 (10000pg/ml), 需要在 12h 以内使用完, 若时间较长 (48h 以内), 则放置 -20℃ 保存, 但不得反复冻融。

二、 Mouse IL-6 生物素抗体工作液的准备:

- 根据每孔需要 100ul 计算总的用量 (实际配制时应多配制 100-200ul)。
- 按 Mouse IL-6 生物素抗体 (100X) 1ul 加入抗体稀释液 99ul 配制工作液混匀。

三、 SA-HRP 工作液的准备:

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

实验步骤

- 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。其余板条及时包装放回冰箱密封干燥保存;
- 重组抗原标准品, 利用样品稀释液稀释出浓度梯度为: 1000pg/ml、500pg/ml、250pg/ml、125pg/ml、62.5pg/ml、31.3pg/ml、15.6pg/ml;
- 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);
- 利用封板膜封好, 37℃ 反应 90min;
- 甩去酶标板中的液体, 并利用吸水纸擦干 (不洗涤), 加入准备好的 Mouse IL-6 生物素标记抗体工作液。100ul / 孔, 贴好封板膜, 37℃ 反应 60min;
- 利用 1X 洗涤缓冲液 300ul / 孔, 洗涤 3 次;
- 将 SA-HRP 工作液按照 100ul / 孔加入板孔, 贴好封板膜, 37℃ 反应 30min;
- 利用 1X 洗涤缓冲液 300ul / 孔洗板 5 次;
- 90ul / 孔加入 TMB 显色液, 37℃ 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)
- 按照 100ul / 孔加入 TMB 终止液, 孔内液体颜色由蓝色变为黄色;
- 用酶标仪在 450nm 光波处检测 OD 值;
- 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 C503 室 电话: 021-31550304

邮箱: techsupport@pc-biotech.com

网址: www.pc-biotech.com