

大鼠白介素 12(IL-12/P70)ELISA 试剂盒实验原理

BS-3016 大鼠白介素 12(IL-12/P70)ELISA 试剂盒

实验原理:

本试剂盒应用双夹心法测定标本中白介素 12(IL-12/P70)水平。用纯化的白介素 12(IL-12/P70)捕获包被微孔板,制成固相,往包被的微孔中依次加入白介素 12(IL-12/P70),再与 HRP 标记的检测结合,形成-抗原-酶标复合物,经过洗涤后加底物 TMB 显色。TMB 在 HRP 酶的催化下转化成蓝色,并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和样品中的白介素 12(IL-12/P70)呈正相关。用酶标仪在 450nm 波长下测定吸光度(OD 值),通过标准曲线计算样品中白介素 12(IL-12/P70)含量。

样品采集:

收集标本前必须清楚要检测的成份是否足够稳定。对收集后当天进行检测的标本,储存在 4℃ 备用,如有特殊原因需要周期收集标本,将标本及时分装后放在-20℃或-70℃条件下保存。避免反复冻融。标本 2-8℃可保存 48 小时,-20℃可保存凝血因子 IXELISA 试剂盒

自备物品:

- 1、 37℃ 恒温箱
- 2、 标准规格酶标仪
- 3、 精密移液器及一次性吸头
- 4、 蒸馏水
- 5、 一次性试管
- 6、 吸水纸

大鼠白介素 12(IL-12/P70)ELISA 试剂盒实验原理样本处理及要求:

1. 血清:室温血液自然凝固 10-20 分钟,离心 20 分钟左右(2000-3000 转/分)。仔细收集上清,保存过程中如出现沉淀,应再次离心。

2. 血浆:应根据标本的要求选择 EDTA 或柠檬酸钠作为抗凝剂,混合 10-20 分钟后,离心 20 分钟左右(2000-3000 转/分)。仔细收集上清,保存过程中如有沉淀形成,应该再次离心。

3. 尿液:用无菌管收集,离心 20 分钟左右(2000-3000 转/分)。仔细收集上清,保存过程中如有沉淀形成,应再次离心。胸腹水、脑脊液参照实行。

4. 细胞培养上清:检测分泌性的成份时,用无菌管收集。离心 20 分钟左右(2000-3000 转/分)。仔细收集上清。检测细胞内的成份时,用 PBS (PH7. 2-7. 4) 稀释细胞悬液,细胞浓度达到 100 万/ml 左右。通过反复冻融,以使细胞破坏并放出细胞内成份。离心 20 分钟左右(2000-3000 转/分)。仔细收集上清。保存过程中如有沉淀形成,应再次离心。

5. 组织标本:切割标本后,称取重量。加入一定量的 PBS, PH7. 4。用液氮迅速冷冻保存备用。标本融化后仍然保持 2-8℃ 的温度。加入一定量的 PBS (PH7. 4), 用手工或匀浆器将标本匀浆充分。离心 20 分钟左右(2000-3000 转/分)。仔细收集上清。分装后一份待检测,其余冷冻备用。

6. 标本采集后尽早进行提取,提取按相关文献进行,提取后应尽快进行实验。若不能马上进行试验,可将标本放于-20℃ 保存,但应避免反复冻融。

7. 不能检测含 NaN_3 的样品,因 NaN_3 辣根过氧化物酶的(HRP)活性。

实验步骤

标准品稀释:用标准品稀释液将标准品梯度稀释为 0、1. 37、4. 11、12. 33、37、111、333、1000 pg/mL。

加样:每孔加入 50 μL 标准品或样本, 37℃ 孵育 30 分钟。

洗板:弃去液体,用洗涤液洗板 5 次,拍干。

加酶标二抗:每孔加入 50 μL 酶标试剂, 37℃ 孵育 30 分钟。

显色:加入 TMB 显色液 A/B 各 50 μL , 避光孵育 15 分钟。

终止与检测:加入 50 μL 终止液,立即用酶标仪 450nm 读数。

结果计算

绘制标准曲线(IL-11 浓度 vs. OD 值)。

根据样本 OD 值代入回归方程计算实际浓度,乘以稀释倍数。

操作程序总结：

准备试剂，样品和标准品



加入准备好的样品和标准品，37°C反应30分钟



洗板5次，加入酶标试剂，37°C反应30分钟



洗板5次，加入显色液A、B，37°C显色10分钟



加入终止液



15分钟之内读 OD 值



计算

注意事项

实验环境：避免 NaN₃ 干扰 (HRP 活性) 。

样本保存：-20°C 短期保存，-80°C 长期保存，避免反复冻融。

注：仅供科研使用，以上资料供参考，如需具体产品说明请咨询技术老师或品牌供应商。

大鼠白介素 11 (IL-11) ELISA 试剂盒实验使用说明书 本生一直视质量控制为企业的生命，追求企业竞争力的不断提升。公司在经营中始终秉承：遵纪守法，严于律己，宽仁以待，敢于承担的企业精神作为标准，以过硬的质量和优良的服务来维护和拓展市场，较大限度的满足客户的需求。与客户的共赢，是我们的发展目标。本生！您信任的合作伙伴。我们愿与您真诚合作，共创美好的未来。本生试剂盒