EliKine™ 大鼠白介素-4 ELISA定量试剂盒

Cat #: KTE9003 Size: 48 T/96 T

	大鼠白介素-4 ELISA 定量试剂盒		
REF	**货号：** KTE9003	LOT	**批号：** 见产品标签
	检测范围： 2 pg/mL - 80 pg/mL		**灵敏度：** 0.5 pg/mL
	精密度：板内变异系数<10%, 板间变异系数<12%		**回收率：** 范围从 98%到 116%，平均回收率 106%
	特异性： 检测具有高灵敏度和优良的特异性。未观察到和大鼠白介素-4 类似物之间的显着交叉反应或干扰。		
	适用样本： 血清（浆）、组织、细胞、细胞上清及相关液体样本		
	保质期： 4℃，避光保存 6 个月		

原理

白细胞介素 4 是一种多效细胞因子，主要由活化的 T 淋巴细胞，肥大细胞和嗜碱性粒细胞产生。IL-4 对多种细胞类型具有多种免疫应答调节功能。它是前体 T 辅助性细胞向 Th2 亚群分化的重要调节因子，介导体液免疫以及调节产生抗体。EliKine™ 大鼠白介素-4 ELISA 定量试剂盒采用双抗体夹心法来定量样品中的大鼠白介素-4。用抗大鼠白介素-4 的特异性抗体包被于酶标板上， 将样品或标准品加入酶标板的孔中， 其中的大鼠白介素-4 会与包被在板上的固相抗体结合。未结合的成分被洗去，然后将 HRP 偶联的抗小鼠白介素-4 特异性抗体加入孔中。 在洗涤去除任何未结合的 HRP 偶联抗体试剂后，加入显色底物(TMB)， TMB 在 HRP 催化下呈现蓝色，加终止液后变成黄色。用酶标仪在 450 nm 波长处测 OD 值，大鼠白介素-4 浓度与 OD450 值之间呈正比。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	**96 T**	
Rat IL-4 Microplate	48 wells	96 wells	4℃
Rat IL-4 Standard (160 pg/mL)	0.5 mL	0.5 mL	4℃
Standard Diluent	1.5 mL	1.5 mL	4℃
HRP-conjugated Rat IL-4 Detect Antibody	3 mL	6 mL	4℃
Sample Diluent	3 mL	6 mL	4℃
HRP Substrate A	3 mL	6 mL	4℃，避光保存
HRP Substrate B	3 mL	6 mL	4℃，避光保存

Abbkine, Inc • • www.abbkine.com
Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

Stop Solution	3 mL	6 mL	4℃
Wash Buffer	20 mL (20×)	20 mL (30×)	4℃
Plate Covers	1	2	室温

自备耗材

- 酶标仪（能测 450 nm 处的吸光度）
- 多通道移液器或自动洗板机
- 恒温箱、低温离心机
- 可调节式移液枪及枪头
- 去离子水

试剂准备

Standard Diluent：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。Standard Diluent 用于稀释标准品。

Sample Diluent：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。Sample Diluent 用于稀释样品。

Rat IL-4 Standard: 即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

HRP-conjugated Rat IL-4 Detect Antibody：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

HRP Substrate A：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

HRP Substrate B：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

Stop Solution：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

1×Wash Buffer：Wash Buffer 使用前平衡到室温，48 T 用去离子水将 Wash Buffer 稀释 20 倍，96 T 用去离子水将 Wash Buffer 稀释 30 倍得到 1×Wash buffer。轻轻混合以避免起泡，室温保存，此溶液可稳定保存 30 天。

标准曲线设置：按下表所示，用 Standard Diluent 将 160 pg/mL 标准品稀释为 80、40、20、10 和 5 pg/mL 的 Rat IL-4 标准品。

序号	标准品体积	Standard Diluent 体积（μL）	标准品浓度（pg/mL）
Std.1	150 μL of 160 pg/mL	150	80
Std.2	150 μL of Std.1 (80 pg/mL)	150	40
Std.3	150 μL of Std.2 (40 pg/mL)	150	20
Std.4	150 μL of Std.3 (20 pg/mL)	150	10
Std.5	150 μL of Std.4 (10 pg/mL)	150	5

注意：每次实验都需要新配制标准品。

样本制备

1. 细胞培养上清：离心除去颗粒，立即测定或分装-20℃保存，避免反复冻融。

2. 血清：使用血清分离管，让样品在室温下凝结 30 min，然后 1,000 g 离心 15 min。取上层血清立即测定或分装-20℃保存，避免反复冻融。

3. 血浆：使用 EDTA、肝素或柠檬酸盐作为抗凝剂收集血浆。 在收集后 30 min 内 1,000 g 离心 15 min。立即测定或分装-20℃保存，避免反复冻融。

4. 组织：称取 0.1 g 组织，加入 0.9 mL 冰预冷的 0.01 M pH7.4 的 PBS（可加入蛋白酶抑制剂）冰浴匀浆，收集匀浆液 4℃，10,000 g 离心 10 min， 取上清立即测定或分装-20℃保存，避免反复冻融。

5. 细胞：贴壁细胞用冷的 PBS 轻轻清洗， 然后用胰蛋白酶消化，1,000 g 离心 5 min 后收集细胞； 悬浮细胞可直接离心收集。收集的细胞用冷的 PBS 洗涤 3 次。每 10^6 个细胞中加入个细胞中加入 150-200 μL PBS 重悬（推荐在 PBS 中加入蛋白酶抑制剂；若含量很低可减少 PBS 的体积）并通过冰浴超声破碎 2 min（功率 20%或 200 W， 超声 3 s， 间隔 7 s， 重复 12 次） 。 将提取液于 4℃，10,000 g 离心 10min，取上清立即测定或者分装-20℃保存， 避免反复冻融。

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

6. 尿液、唾液等其他液体生物样本：3,000 g 离心 10min，取上清立即测定或者分装-20℃保存，避免反复冻融。

注意：不要使用严重溶血或脂血的标本。如果样品要在 24 h 内使用，则可以将其储存在 2 至 8℃，避免反复冻融。测定前，应将冷冻样品缓慢升至室温并轻轻混合。

实验步骤

1. 从板框上取下多余的板条，将它们放回装有干燥剂包的铝箔袋中，然后重新密封。
2. 分别设空白孔（空白对照孔不加样品、HRP-conjugated Rat IL-4 Detect Antibody，其余各步操作相同）、待测样品孔。在酶标包被板上待测样品孔中先加入 40 μL Sample Diluent 和 10 μL 样品（样品最终稀释倍数为 5 倍）。加样将样品加于酶标板孔底部，尽量不触及孔壁，轻轻晃动混匀。标准孔依次加入 50 μL 不同浓度的标准品。给酶标板覆膜，在 37℃下孵育 30 min。
3. 除去每孔中的液体并洗涤，重复该过程总共洗涤三次。使用多通道移液器或自动清洗机每孔加入 250 μL 1×Wash buffer 进行洗涤，然后静置 1-2 min。在每个步骤中完全去除液体对于获得良好性能至关重要。最后一次洗涤后，倒置酶标板并用干净的纸巾吸干以除去任何剩余的 1×Wash Buffer。
4. 每孔加入 50 μL 的 HRP-conjugated Rat IL-4 Detect Antibody，空白孔除外。给酶标板覆膜，在 37℃下孵育 30 min。
5. 重复步骤 3 中的洗涤。
6. 每孔先加入 50 μL HRP Substrate A，再加入 50 μL HRP Substrate B，轻轻震荡混匀，37℃避光显色 15 min。
7. 每孔加入 50 μL Stop Solution，Stop Solution 应按照与 TMB 相同的顺序加到板中。孔中的颜色应从蓝色变为黄色。如果孔中的颜色为绿色或颜色变化不均匀，请轻轻敲击板以确保彻底混合。
8. 在 15 min 内，以空白孔调零，测定每孔 450 nm 处的吸光值。

结果计算

1. 计算每个标准品和样品的复孔平均 OD 值。
2. 标准曲线的绘制：以标准品浓度为 x 轴，各标准品的平均吸光度为 y 轴，绘制标准曲线。可以使用作图软件来创建标准曲线。

注意：如果样品被稀释，从标准曲线读取的浓度必须乘以稀释系数

结果展示

典型标准曲线（$R^2 \geqslant 0.99$）

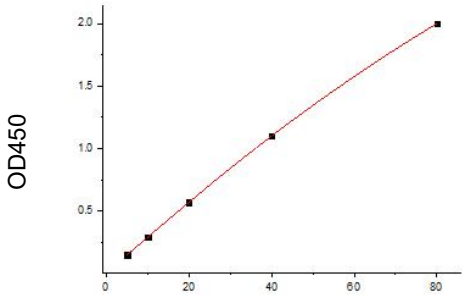


Figure1. 96 孔板分析的大鼠白介素-4 标准曲线。数据和曲线仅供参考，实验者需根据自己的实验建立标准曲线

注意事项

1. 如果 Standard Diluent 和 Sample Diluent 出现颜色变黄，少量沉淀等现象，离心去掉沉淀即可，不影响正常使用。
2. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
3. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。
4. 为确保准确的结果，在孵育步骤中必须正确粘附板贴。
5. Stop Solution 有一定的腐蚀性，操作时请做好防护措施。

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTE6015	EliKine™ 人白介素-4 ELISA 定量试剂盒
KTE9004	EliKine™ 大鼠白介素-6 ELISA 定量试剂盒

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.