

EliKine™ 大鼠干扰素- γ ELISA定量试剂盒

Cat #: KTE9017

Size: 48 T/96 T

	大鼠干扰素- γ ELISA 定量试剂盒		
REF	货号: KTE9017	LOT	批号: 见产品标签
	检测范围: 125 pg/mL-1,500 pg/mL		灵敏度: 100 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。未观察到和大鼠干扰素- γ 类似物之间的显著交叉反应或干扰。		
	适用样本: 血清、血浆、组织、细胞上清及相关液体样本		
	保质期: 4°C保存 6 个月		

原理

干扰素- γ 由特定抗原或有丝分裂原激活的淋巴细胞产生。在除具有抗病毒活性外，还具有重要的免疫调节功能。它是一个巨噬细胞的强效激活剂，对转化细胞具有抗增殖作用可增强 I 型干扰素的抗病毒和抗肿瘤作用。EliKine™ 大鼠干扰素- γ ELISA 定量试剂盒采用双抗体夹心法来定量样品中的大鼠干扰素- γ 。用抗大鼠干扰素- γ 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，其中的大鼠干扰素- γ 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 标记的抗大鼠干扰素- γ 特异性抗体加入孔中。HRP 标记的抗大鼠干扰素- γ 抗体与结合在包被抗体上的大鼠干扰素- γ 结合而形成免疫复合物。在洗涤去除任何未结合的 HRP 标记抗体后，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，干扰素- γ 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 IFN- γ Microplate	48 wells	96 wells	4°C
Rat IFN- γ Standard (2,250 pg/mL)	0.5 mL	0.5 mL	4°C
Standard Diluent	1.5 mL	1.5 mL	4°C
Sample Diluent	3 mL	6 mL	4°C
Rat IFN- γ Detect Antibody	3 mL	6 mL	4°C
HRP Substrate A	3 mL	6 mL	4°C, 避光保存
HRP Substrate B	3 mL	6 mL	4°C, 避光保存

Stop Solution	5 mL	10 mL	4°C
Wash Buffer	20 mL (20×)	20 mL (30×)	4°C
Plate Covers	2	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°C 保存。

Sample Diluent: 即用型；使用前，平衡到室温；4°C 保存。

Rat IFN-γ Standard (2,250 pg/mL): 即用型；使用前，平衡到室温；4°C 保存。

Rat IFN-γ Detect Antibody: 即用型；使用前，平衡到室温；4°C 保存。

HRP Substrate A: 即用型；使用前，平衡到室温；4°C 避光保存。

HRP Substrate B: 即用型；使用前，平衡到室温；4°C 避光保存。

Stop Solution: 即用型；使用前，平衡到室温；4°C 保存。

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 2,250 pg/mL 标准品稀释为 1,500, 1,000, 500, 250, 和 125 pg/mL 的 Rat IFN-γ 标准品。

序号	标准品体积	Standard Diluent 体积 (μL)	标准品浓度 (pg/mL)
Std.1	200 μL of 2,250 pg/mL	100	1,500
Std.2	200 μL of Std.1 (1,500 pg/mL)	100	1,000
Std.3	100 μL of Std.1 (1,000 pg/mL)	100	500
Std.4	100 μL of Std.4 (500 pg/mL)	100	250
Std.5	100 μL of Std.5 (250 pg/mL)	100	125

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°C 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°C 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°C 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 0.01M pH7.4 的 PBS（可加入蛋白酶抑制剂）冰浴匀浆，收集匀浆液 4°C，3,000 g 离心 20 min，取上清立即测定或分装-20°C 保存，避免反复冻融。
5. 尿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°C 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°C，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. 加样：分别设空白孔（空白对照孔不加样品、Rat IFN- γ 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 μ L Sample Diluent，然后再加入 10 μ L 样品，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 μ L 不同浓度的标准品。给酶标板覆膜，在 37°C 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 5 次。使用多通道移液器或自动清洗机每孔加入 250 μ L 1 $\times$ 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 $\times$ Wash Buffer。
4. 每孔加入 50 μ L 的 Rat IFN- γ Detect Antibody。给酶标板覆膜，在 37°C 下孵育 30 min。
5. 重复步骤 3 中的洗涤。
6. 每孔先加入 50 μ L HRP Substrate A，再加入 50 μ L HRP Substrate B，轻轻震荡混匀，37°C 避光显色 15 min。
7. 每孔加入 50 μ L 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 30 min 内，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，并减去空白孔平均 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（ $\times n \times 5$ ）。

结果展示

典型标准曲线 ($R^2 \geq 0.99$)

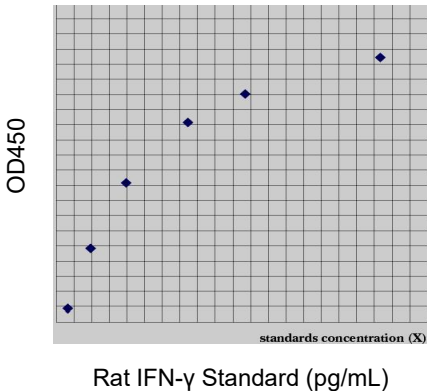


Figure 1. 96 孔板分析的大鼠干扰素- γ 标准曲线。数据和曲线仅供参考，实验者需根据自己的实验建立标准曲线

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，是因为试剂中含有血清导致，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。

相关产品



Catalog No.	Product Name
KTE6013	EliKine™ 人白介素-1β ELISA 定量试剂盒
KTE7005	EliKine™ 小鼠白介素-1β 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。