

# 通用型酶联免疫（ELISA）工具箱 A

货号：PMKES01

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：96T\*2/96T\*5

## 用途

该试剂盒包含 ELISA 实验的全套辅助试剂，用于 ELISA 试剂盒开发使用。

## 试剂盒组成及保存

试剂盒组分	规格		储存条件
	96T*2	96T*5	
酶标板	2 块	5 块	室温
包被液（10×）	2mL	5mL	2-8℃
封闭液	40mL	100mL	2-8℃
洗涤液（20×）	40mL	100mL	2-8℃
标准品/样品稀释液（5×）	8mL	20mL	2-8℃
生物素化抗体稀释液（5×）	5mL	12mL	2-8℃
HRP 酶结合物稀释液（5×）	5mL	12mL	2-8℃
显色液 01	20mL	50mL	2-8℃
终止液	14mL	35mL	2-8℃
板贴	8 张	20 张	室温
加样槽	5 个	5 个	室温

## 自备物品

酶标仪（能测 450nm 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

去离子水或双蒸水

吸水纸

## 试剂准备

**注意：**使用前将所有试剂平衡至室温（18-25℃）。如果试剂盒需分多次使用，请仅取出本次实验所需的酶标板条和试剂，剩余板条和试剂需按照指定条件保存。

1. 包被液：用于 ELISA 中酶标板的抗体或抗原包被。使用时取适量浓缩包被液，用去离子水或蒸馏水 1：10 稀释得包被工作液。用包被工作液将待包被抗体或抗原溶液稀释至合适的包被浓度（可根据推荐或预实验确定合适的包被浓度，抗体建议 1 μg/mL 左右），根据实验需要在 ELISA 酶标板的每个反应孔中加入 100 μL 稀释好的待包被抗体或抗原，2-8℃包被过夜。

2. 封闭液：即用型；用于包被后 ELISA 酶标板的封闭。针对已完成抗原或抗体包被的酶标板，用稀释后的洗涤液洗涤-2 次以去除未结合或结合弱的蛋白质，甩掉洗涤液后，尽量拍净，但不要让板干燥，向每个孔中添加 200 μL ELISA 即用型封闭液进行封闭，通常 37 度孵育 1h，可根据实际情况调整；继续进行后续的 ELISA 方案，或将封闭好的酶标板进行干燥处理；可以倒扣在恒温箱中 37 度烘干半小时或真空干燥 2 小时。将干燥后的 ELISA 酶标板转移至装有干燥剂的包装袋中，2-8℃密封保存。

## 产品说明书

3. 洗涤液:取浓缩洗涤液, 根据检测数量, 用去离子水或蒸馏水 1: 20 稀释, 混匀后备用。使用时甩尽酶标板孔内液体, 每孔加洗涤液约 350  $\mu$ L, 浸泡 30 秒, 吸去或甩掉酶标板内的液体, 在厚的吸水纸上拍干, 重复 3-5 次。
4. 标准品/样品稀释液: 可有效减少 ELISA 实验中样品的基质干扰。使用时取适量浓缩标准品/样品稀释液, 用去离子水或蒸馏水 1: 5 稀释得标准品/样品稀释工作液, 使用工作液将标准品或样品稀释至合适的浓度进行 ELISA 实验检测。适用样本类型: 血清, 血浆, 尿液, 唾液, 组织匀浆, 细胞裂解液、细胞培养上清及其他生物液体。
5. 生物素抗体稀释液: 使用时取适量浓缩生物素抗体稀释液, 用去离子水或蒸馏水 1: 5 稀释得生物素抗体稀释工作液, 使用工作液将浓缩生物素抗体稀释至 1 $\times$ 工作液进行 ELISA 实验, 能够促进反应并有效减少非特异性吸附。
6. HRP 酶结合物稀释液: 使用时取适量浓缩 HRP 酶结合物稀释液, 用去离子水或蒸馏水 1: 5 稀释得 HRP 酶结合物稀释工作液, 使用工作液将浓缩 HRP 酶结合物稀释至 1 $\times$ 工作液进行 ELISA 实验, 能够促进反应并有效减少非特异性吸附。
7. 显色液 01: 显色液 01 为即用型单组份 TMB 可溶性底物, 用于辣根过氧化物酶 (HRP) 为标记物的 ELISA 体系。直接使用, 操作方便, 低本底; 高稳定, 自生产之日起稳定至少两年。使用时每孔加入 100  $\mu$ L 显色液 01, 根据反应体系孵育 10-30 分钟, 每孔加入 50  $\mu$ L 终止液终止。检测波长 450nm。
8. 终止液: 即用型; 用于终止 ELISA 显色反应。ELISA 实验时加显色液显色反应适当时间后, 每孔加入终止液 50  $\mu$ L 终止显色, 随后使用酶标仪读取 OD 值。

### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验, 尤其是在检测血样或其他体液时。终止液有一定的腐蚀性, 操作时请做好防护措施。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究, 如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途, 我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用, 并请严格按照说明书进行存储。
4. 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。
5. 勤换吸头, 避免各组分之间的交叉污染。
6. 溶解含有蛋白质溶液时, 应始终避免起泡。
7. 不得重复使用稀释后的工作液。
8. 为了得到准确的实验结果, 在孵育过程中, 必须确保板贴将酶标板密封。
9. 在使用自动洗板机时, 添加清洗缓冲液后, 在清洗步骤之间添加 30 秒的浸泡时间可提高分析精度。
10. 显色液对氧化剂敏感, 使用过程中避免污染, 保存过程中应无色, 加入到酶标板中之后显色液应从无色变为渐变蓝色。
11. 终止液应按照与加显色液相同的顺序添加到酶标板中。添加终止液后, 孔中溶液的颜色将从蓝色变为黄色。绿色的孔表明终止液未与显色液充分混合, 应轻拍孔板使其混匀。

### 疑难解答

问题	可能原因	解决措施
标曲线性不好	标准品稀释不正确	确保标准品按照推荐方法溶解和稀释
	移液不准确	定期校准移液器并检查枪头密封性
	反应液蒸发	用板贴密封酶标板
	洗板不彻底	足够的洗涤次数和加入足量洗涤液
	孔底有异物	读数前清洁板底
显色弱或无	试剂反应不充分	确保孵育时间并按推荐温度孵育
	试剂体积添加不足	检查移液器并严格按照操作步骤操作
	稀释不正确	检查试剂稀释步骤
	酶结合物失活	混合酶结合物和显色物, 通过显色反应检查
OD 值低	酶标仪设置不正确	检查仪器波长
	没加终止液	加入适量终止液
	读板时等待时间太长	及时读板

## 产品说明书

夹心法背景高	显色液被污染	更换显色液
	显色时间太长	控制显色时间
	反应试剂稀释错误	使用推荐稀释方法
	洗板不彻底	足够的洗涤次数和加入足量洗涤液

### 相关产品：

PMKES02 ELISA 辅助组分试剂盒 B（高敏）

PMK1258U 未包被入白介素 6 (IL-6) ELISA 试剂盒

PMK1271UQ 未包被入干扰素  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) ELISA 试剂盒（一步法）

PMK1271UB 未包被入干扰素  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) ELISA 试剂盒（高敏）

更多产品详情了解，请关注公众号：

