

人白细胞介素1 β ELISA检测试剂盒

产品编号： H1002

适用于血清、血浆、细胞上清液和组织均浆样本

仅供研究，不用于临床诊断

北京百奥赛维科技有限公司

服务热线：010-53655330

公司官网：www.cellsan.cn

目 录

检测原理	3
样品收集、处理及保存方法.....	3
自备物品.....	4
操作注意事项.....	4
试剂盒组成.....	4
试剂的准备.....	5
洗板方法.....	5
操作步骤.....	5
结果判断.....	6
试剂盒性能.....	6
常见问题及解决方法.....	7
免责声明.....	8

人白细胞介素 1 β ELISA 检测试剂盒

检测原理

试剂盒采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验 (ELISA)。往预先包被人白细胞介素 1 β 捕获抗体的包被微孔中, 依次加入标本、标准品、HRP 标记的检测抗体, 经过温育并彻底洗涤。用底物 TMB 显色, TMB 在过氧化物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人白细胞介素 1 β 呈正相关。用酶标仪在 450nm 波长下测定吸光度 (OD 值), 计算样品浓度。

样品收集、处理及保存方法

1. 血清: 使用不含热原和内毒素的试管, 操作过程中避免任何细胞刺激, 收集血液后, 3000 转离心 10 分钟将血清和红细胞迅速小心地分离。
2. 血浆: EDTA、柠檬酸盐或肝素抗凝。3000 转离心 30 分钟取上清。
3. 细胞上清液: 3000 转离心 10 分钟去除颗粒和聚合物。
4. 组织匀浆: 将组织加入适量生理盐水捣碎。3000 转离心 10 分钟取上清。
5. 保存: 如果样本收集后不及时检测, 请按一次用量分装, 冻存于 -20℃, 避免反复冻融, 在室温下解冻并确保样品均匀地充分解冻。

自备物品

1. 酶标仪（450nm）
2. 高精度加样器及枪头：0.5-10uL、2-20uL、20-200uL、200-1000uL
3. 37℃ 恒温箱

操作注意事项

1. 试剂盒保存在 2-8℃，使用前室温平衡 20 分钟。从冰箱取出的浓缩洗涤液会有结晶，这属于正常现象，水浴加热使结晶完全溶解后再使用。
2. 实验中不用的板条应立即放回自封袋中，密封（低温干燥）保存。
3. 预处理后的样本无需稀释，直接取 10μL 加样即可。
4. 严格按照说明书中标明的时间、加液量及顺序进行温育操作。
5. 所有液体组分使用前充分摇匀。

试剂盒组成

名称	96 孔配置	48 孔配置	备注
微孔酶标板	12 孔×8 条	12 孔×4 条	无
标准品（200 ng/ml）	0.5mL	0.5mL	按说明书进行稀释
标准品稀释液	6mL	3mL	按说明书进行稀释
样本稀释液	6mL	3mL	按说明书进行稀释
检测抗体-HRP	6mL	3mL	无
20×洗涤缓冲液	20mL	20mL	按说明书进行稀释
底物 A	6mL	3mL	无
底物 B	6mL	3mL	无
终止液	6mL	3mL	无
封板膜	2 张	2 张	无
说明书	1 份	1 份	无
自封袋	1 个	1 个	无

注：标准品用标准品稀释液依次稀释为：200、100、50、25、12.5、0ng/ml.

试剂的准备

20×洗涤缓冲液的稀释：蒸馏水按 1：20 稀释，即 1 份的 20×洗涤缓冲液加 19 份的蒸馏水。

洗板方法

1. 手工洗板：甩尽孔内液体，每孔加满洗涤液，静置 1min 后甩尽孔内液体，在吸水纸上拍干，如此洗板 5 次。
2. 自动洗板机：每孔注入洗液 350μL，浸泡 1min，洗板 5 次。

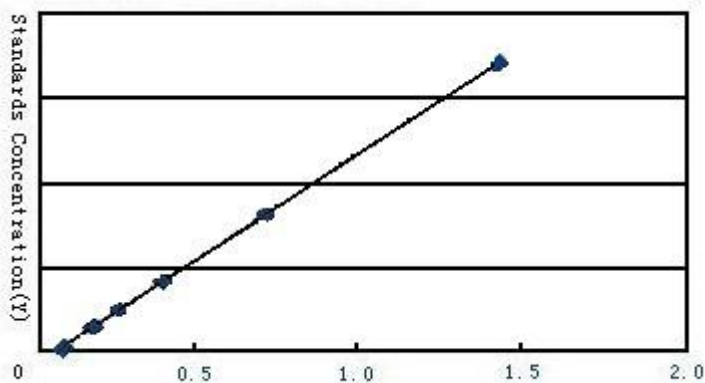
操作步骤

1. 从室温平衡 20min 后的铝箔袋中取出所需板条，剩余板条用自封袋密封放回 4℃。
2. 设置标准品孔、样本孔和空白孔，空白孔什么都不加；标准品孔各加不同浓度的标准品 50μL；
3. 待测样本孔先加待测样本 10μL，再加样本稀释液 40μL；
4. 随后标准品孔和样本孔中（空白孔不加）加入辣根过氧化物酶（HRP）标记的检测抗体 50μL，用封板膜封住反应孔，37℃水浴锅或恒温箱温育 60min。
5. 弃去液体，吸水纸上拍干，每孔加满洗涤液，静置 1min，甩去洗涤液，吸水纸上拍干，如此重复洗板 5 次（也可用洗板机洗板）。
6. 所有孔加入底物 A、B 各 50μL，37℃避光孵育 15min。

7. 所有孔加入终止液 50 μ L, 15min 内, 在 450nm 波长处测定各孔的 OD 值。

结果判断

绘制标准曲线：在 Excel 工作表中，以标准品浓度作横坐标，对应 OD 值作纵坐标，绘制出标准品线性回归曲线，按曲线方程计算各样本浓度值。



试剂盒性能

1. 准确性：标准品线性回归与预期浓度相关系数 R 值，大于等于 0.9200。
2. 灵敏度：最低检测浓度小于 0.78 ng/ml。
3. 特异性：不与其它可溶性结构类似物交叉反应。
4. 重复性：板内、板间变异系数均小于 15%。
5. 贮藏：2-8℃，避光防潮保存。
6. 有效期：6 个月
7. 检测范围：3.12 ng/ml -200ng/ml

常见问题及解决方法：

问题	可能原因	解决方法
高背景或阴性对照值偏高	洗板不充分	将洗涤液注入反应孔充分洗涤，彻底拍干孔中液体
	酶结合物过量	检查酶稀释度，按说明书标识的稀释度稀释
	底物污染	加底物前检查底物是否为透明无色，请勿用变蓝的底物，重新用新的底物试验
	阴性对照孔被阳性对照污染	注意洗涤时不要把洗液溢出孔外，不使阴阳对照孔液体连接一起
	不同批次试剂混用	检查试剂批号，请勿用不同批次试剂
显色信号弱	试剂过期	检查试剂盒有效期，请勿用过期试剂
	孵育时间过短	按说明书中规定的时间孵育
	试剂污染	检查试剂是否污染，请勿用污染的试剂
	酶标仪滤光片不匹配	检查酶标仪设置及滤光片是否匹配
	试剂盒平衡不充分	确保试剂盒试验前平衡至室温
	显色时间不够	增加底物显色时间
无显色信号	检测抗体、酶、或显色剂漏加	检查试验操作流程，重复试验
	酶被叠氮钠污染	请使用重新配制的试剂
	试剂添加顺序有误	检查复核试验添加顺序、流程，重复试验
标曲佳但样品孔无信号	样品中靶标物含量低或样品中无靶标物	设置阳性对照，重复实验
	样品基质效应影响检测	重新稀释样品后复测
标曲佳但样品信号偏高	样品中待检物含量超过标准曲线范围	重新稀释样品后复测
边缘效应	孵育温度不均衡	孵育时每步均使用新的封板胶纸，避免在环境温度变化大的地方孵育，勿叠放反应板

免责声明

1. 试剂盒仅供研究使用，不得用于临床实验或人体实验，否则所产生的一切后果，由实验者承担，本公司概不负责。
2. 严格按照说明书操作，不同批号不可交换使用，实验者违反说明书操作，后果由实验者承担