

Human IL-2 ELISA Kit 人IL-2 ELISA试剂盒

【产品概述】

白介素 2(IL-2)是一种多效性细胞因子,在机体的免疫应答中起重要作用。IL-2 最重要的作用是诱导 T 淋巴细胞增殖和分化,此外,IL-2 还可调节多种细胞的免疫应答。IL-2 可刺激 T 细胞转铁蛋白受体(TfR, CD71)、胰岛素受体、MHC II 类抗原的表达,并产生多种淋巴因子如 IFN- γ 、IL-4、IL-5、IL-6、TNF- β 及 CSF 等。IL-2 还可促进 CTL、NK 和 LAK 等多种杀伤细胞的分化和效应功能,并诱导杀伤细胞产生 IFN- γ 、TNF- α 等细胞因子。IL-2 可直接作用于 B 细胞,促进其增殖、分化和 Ig 分泌。在体内,IL-2 有抗肿瘤、抗微生物感染、引起移植排斥和自身免疫以及免疫调节等作用。人 IL-2 含有 133 个氨基酸残基,分子量为 15.5kDa。天然 IL-2 在 N 端含有糖基,但糖基对 IL-2 的生物活性无明显影响,等电点为 6.6~8.2。人 IL-2 基因定位于第 4 号染色体,长约 5kb,由 4 个外显子和 3 个内含子组成。

本实验采用双抗体夹心 ELISA。用抗人 IL-2 单克隆抗体预包被酶标板,加入适度稀释的样本和标准品,其中的 IL-2 会与其单抗结合,洗去游离成分;加入生物素化的抗人 IL-2 抗体,抗人 IL-2 抗体与结合在单抗上的人 IL-2 结合而形成免疫复合物,洗去游离的成分;加入辣根过氧化物酶标记的亲合素,生物素与亲合素特异性结合,洗去未结合的酶结合物;加入显色剂,若反应孔中有 IL-2,辣根过氧化物酶会使无色的显色剂现蓝色;加终止液变黄。在 450nm 下测 OD 值,IL-2 浓度与 OD450 值之间呈正比,可通过绘制标准曲线计算出标本中 IL-2 浓度。

【产品规格及组分】

货号及规格	C602-01(48 Tests)	C602-02(96 Tests)	保存条件
1a标准品	1 支(冻干)	2 支(冻干)	4℃
1b 标准品和标本稀释液	1 瓶	1 瓶	4℃
2a浓缩生物素化抗体 100×	1 支	2 支	4℃
2b生物素化抗体稀释液	1 瓶	1 瓶	4℃
3a浓缩酶结合物 100×	1 支	2 支	4℃(避光)
3b酶结合物稀释液	1 瓶	1 瓶	4℃
4浓缩洗涤液 20×	1 瓶	1 瓶	4℃
显色剂	1 瓶	1 瓶	4℃(避光)
终止液	1 瓶	1 瓶	4℃
抗体包被板条	8×6	8×12	4℃
封板胶纸	2 张	4 张	
说明书	1 份	1 份	

【标本收集】

1. 收集血液的试管应为一次性的无热原,无内毒素试管。
2. 血浆抗凝剂推荐使用EDTA。避免使用溶血,高血脂标本。
3. 标本应清澈透明,悬浮物应离心去除。
4. 标本收集后若不及时检测,需按一次使用量分装,冻存于-20℃, -70℃冰箱内,避免反复冻融。
5. 可根据标本的实际情况,做适当倍数稀释(建议做预实验,以确定稀释倍数)。

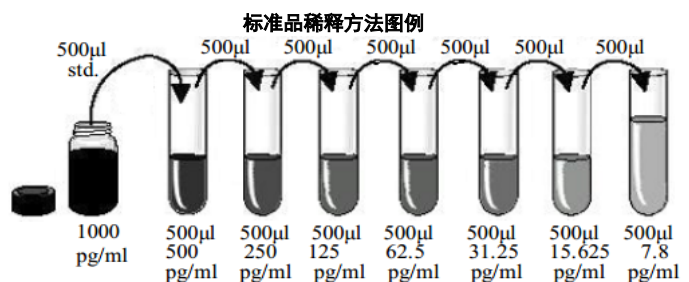
注:血清或血浆样本冻存后聚合的蛋白会遮盖抗原的表位,建议用试剂稀释液将血清或血浆样本做 1:2 稀释后检测。计算样本含量时应乘以稀释倍数。

【使用方法】

检测前准备工作:

1. 请提前20分钟从冰箱中取出试剂盒,平衡至室温。
2. 将浓缩洗涤液用双蒸水稀释(1:20)。未用完的放回4℃。
3. 标准品:加入标准品/标本稀释液(1b)1.0ml至冻干标准品(1a)中,待彻底溶解后,静置15分钟混匀(浓度为1000pg/ml),然后根据需要稀释,(建议标准曲线使用以下浓度: 500、250、125、62.5、31.25、15.625、7.8、0 pg/ml)。

注:稀释的标准品不得重复使用,未用完的标准品应按照一次用量分装后,将其放在-20~-70℃贮存,一次性使用,避免反复冻融。



- 生物素化抗体工作液：根据每孔需要100 μ l来计算总的用量，多配制100-200 μ l。以生物素化抗体稀释液(2b)稀释浓缩生物素化抗体(2a)(1:100)。最好现用现配。
- 酶结合物工作液：以酶结合物稀释液(3b) 稀释浓缩酶结合物(3a)(1:100)。最好现用现配。

洗涤方法:

- 自动洗板机：要求注入的洗涤液为350 μ l，注入与吸出间隔20—30秒。洗板4次。
- 手工洗板：每孔加洗涤液350 μ l，静置30秒后甩尽孔内液体，在厚迭吸水纸上拍干。洗板5次。

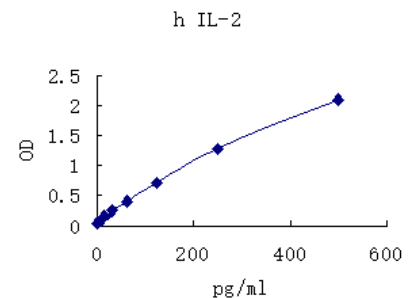
操作步骤:

- 从已平衡至室温的密封袋中取出试验所需板条，未用的板条和干燥剂请放回铝箔袋内封存于4 $^{\circ}$ C。
- 留空白孔（若使用双波长读板，空白孔可以不设）。
- 将标本或不同浓度标准品（0 pg/ml孔加试剂稀释液）加入相应孔中(100 μ l/孔)，用封板胶纸封住反应孔，37 $^{\circ}$ C孵育90分钟。
- 提前30分钟制备生物素化抗体工作液。
- 洗板5次。
- 除空白孔外，加入生物素化抗体工作液(100 μ l/孔)。用封板胶纸封住反应孔，37 $^{\circ}$ C孵育60分钟。
- 提前30分钟制备酶结合物工作液。室温避光放置。
- 洗板5次。
- 除空白孔外，加入酶结合物工作液(100 μ l/孔)。用封板胶纸封住反应孔，37 $^{\circ}$ C孵育，避光孵育30分钟。
- 洗板5次。
- 加入显色底物（包括空白孔）100 μ l/孔，37 $^{\circ}$ C孵育，避光孵育15分钟。
- 加入终止液（包括空白孔）100 μ l/孔，混匀后即刻测量 OD₄₅₀ 值(10分钟内)。

注：酶标仪(450 nm 检测波长滤光片，570 nm 或 630 nm 校正波长滤光片)

结果判读:

- 每个标准品和标本的OD值应减去零孔的OD值。（若不减零孔值，标准曲线的零孔应相交于Y轴）
- 使用计算机软件以标准品浓度为横坐标，OD值为纵坐标，生成相应的标准曲线。通过标本的OD值可在标准曲线上换算出其浓度。
- 若标本OD值高于标准曲线上限，应当适当稀释后重测，计算浓度时应乘以稀释倍数。



注：本图仅供参考，应以同次试验标准品所绘标准曲线计算标本含量。

【灵敏度，特异性和重复性】

- 灵敏度：最小可测人IL-2达4 pg/ml。
- 特异性：不与IL-1,2,3,4,6,7,8 ,LIF,TGF及TNF等反应。
- 重复性：板内、板间变异系数均<10%。

【注意事项】

- 试剂盒使用前请保存在2-8 $^{\circ}$ C。除复溶后的标准品，其他成分不可冻结。
- 浓缩生物素化抗体，浓缩酶结合物体积小，运输中颠簸和可能的倒置，会使液体沾到管壁或瓶盖。因此使用前请用手甩几下或1000 rpm离心1分钟，以使附着管壁或瓶盖的液体沉积到管底。
- 从冰箱中取出的浓缩洗涤液可能有结晶,属于正常现象，微加热至40 $^{\circ}$ C使结晶完全溶解后再配制洗涤液。
- 若需要分次使用标准品，在标准品复溶后应按每一次用量分装，将其放在-20或-70 $^{\circ}$ C贮存。避免反复冻融。
- 不同批号的试剂盒组份不能混用（洗涤液和反应终止液除外）。
- 充分轻微混匀对反应结果尤为重要，最好使用微量振荡器(使用最低频率)，如无微量振荡器，可在反应前手工轻轻晃动酶标板，使加入孔中的反应液混匀。
- 酶免试验中标准品和样本检测时建议作复孔。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下，本公司对此产品所承担的责任，仅限于此产品的价值本身。