

## Human IL-4 ELISA Kit 人IL-4 ELISA试剂盒

### 【产品概述】

白介素 4(IL-4)是一种多功能细胞因子,主要是由激活的 T 淋巴细胞、肥大细胞与碱性粒细胞表达。IL-4 对多种细胞有多种不同的调节免疫功能。IL-4 是抗体亚型转换重要的调节者,包括在 B 淋巴细胞上诱导 IgE 表达。它是 T 辅助前体细胞向 Th2 细胞分化的重要调节者,而后者是参与体液免疫与抗体生成。另外,IL-4 被指出参与体内与体外的抗肿瘤活性。人 IL-4 的 cDNA 编码 153 个氨基酸组成的前体蛋白质,其中包含 24 个氨基酸组成的信号肽,当信号肽被剪切后就形成了成熟的 IL-4 分子。在氨基酸水平,成熟的人 IL-4 与小鼠 IL-4 有 50% 的序列同源性,两种分子没有交叉反应性。人 IL-4 与人 IL-13 也有 30% 的氨基酸序列同源性,它们的生物学活力有一定交叉重叠。IL-4 基因定位在染色体 5q 位点,与 IL-3、IL-5、IL-13 以及 GM-CSF 等基因在染色体上的位点非常接近。

本实验采用双抗体夹心 ELISA 法。抗人 IL-4 单抗包被在酶标板上,标本和标准品中的 IL-4 会与单抗结合形成免疫复合物;再利用生物素化的抗人 IL-4 抗体与酶标板上结合的标准品或样本中的人 IL-4 结合而形成双夹心的免疫复合物;加入辣根过氧化物酶标记的亲合素,亲合素与生物素特异性结合。加入显色底物(显色剂),若反应孔中有 IL-4,辣根过氧化物酶会使无色的显色剂变蓝,加终止液变黄。在 450 nm 处测 OD 值,IL-4 浓度与 OD<sub>450</sub> 值之间呈正相关,可通过绘制标准曲线求出标本中 IL-4 浓度。

### 【产品规格及组分】

货号及规格	C603-01(48 Tests)	C603-02(96 Tests)	保存条件
1a标准品	1 支(冻干)	2 支(冻干)	4 °C
1b 标准品和标本稀释液	1 瓶	1 瓶	4°C
2a浓缩生物素化抗体 100x	1 支	2 支	4 °C
2b生物素化抗体稀释液	1 瓶	1 瓶	4 °C
3a浓缩酶结合物 100x	1 支	2 支	4 避光)
3b酶结合物稀释液	1 瓶	1 瓶	4 °C
4浓缩洗涤液 20x	1 瓶	1 瓶	4 °C
显色剂	1 瓶	1 瓶	4 避光)
终止液	1 瓶	1 瓶	4 °C
抗体包被板条	8x6	8x12	4 °C
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°C, -70°C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)。

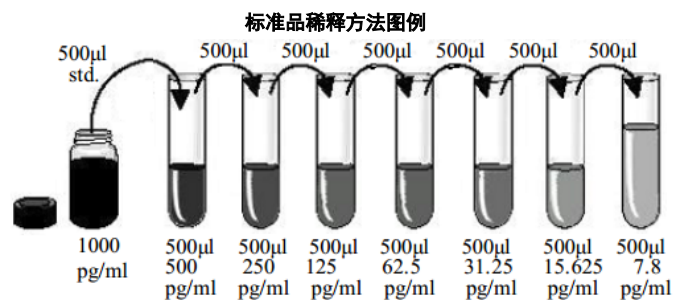
注:血清或血浆样本冻存后聚合的蛋白会遮盖抗原的表位,建议用试剂稀释液将血清或血浆样本做 1:2 稀释后检测。计算样本含量时应乘以稀释倍数。

### 【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°C。
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),然后根据需要进行稀释,(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°C贮存,一次性使用,避免反复冻融。



- 生物素化抗体工作液：生物素化抗体工作液：根据每孔需要100 $\mu$ l来计算总的用量，多配制100-200 $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ l，静置30秒后甩尽孔内液体，在厚透吸水纸上拍干。洗板5次。

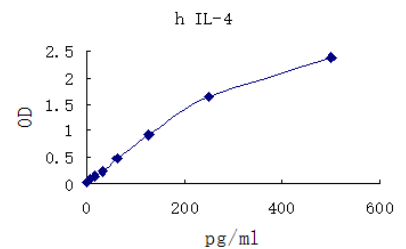
#### 操作步骤：

- 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 $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ l/孔，混匀后即刻测量 OD<sub>450</sub>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-4达2 pg/ml。
- 特异性：不与IL-1 $\alpha$ , 1 $\beta$ , 2 sR $\alpha$ ,3,4 ,6,7,8, LIF, TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , SCF及VEGF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。