

Human IL-8 ELISA Kit 人IL-8 ELISA试剂盒

【产品概述】

白介素8(IL-8)是嗜中性粒细胞特异性的CXC家族的趋化因子成员之一，是一个多功能的嗜中性粒细胞趋化因子与激活因子。它主要是个炎症因子，在前炎症因子（如IL-1、TNF、LPS与病毒）刺激后，许多细胞表达IL-8，包括T细胞、单核细胞（巨噬细胞）、纤维原细胞、嗜中性粒细胞、血管内皮细胞、肝细胞、角质细胞等等。它的功能部分是趋化嗜中性粒细胞到炎症反应位点来激活它们。人IL-8的cDNA编码99个氨基酸的蛋白质，22个氨基酸信号肽被剪切后形成分子量约8kDa成熟体。蛋白质N端进一步降解后形成72个氨基酸的变体。IL-8的完全激活可能需要剪切成72个氨基酸组成的形式。IL-8在高浓度时，能形成非共价的二聚体，但这种二聚体不是生物学活性形式。

本实验采用双抗体夹心 ELISA 法。抗人 IL-8 单抗包被于酶标板上，标本和标准品中的 IL-8 会与单抗结合形成免疫复合物，游离的成分被洗去；加入生物素化的抗人 IL-8 抗体，生物素化抗人 IL-8 抗体与酶标板上结合的标准品或样本中的 IL-8 结合而形成免疫复合物，游离的成分被洗去；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，游离的成分被洗去。加入显色底物（显色剂），若反应孔中有 IL-8，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-8 浓度与 OD₄₅₀ 值之间呈正相关，可通过绘制标准曲线求出标本中 IL-8 浓度。

【产品规格及组分】

货号及规格	C605-01(48 Tests)	C605-02(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。

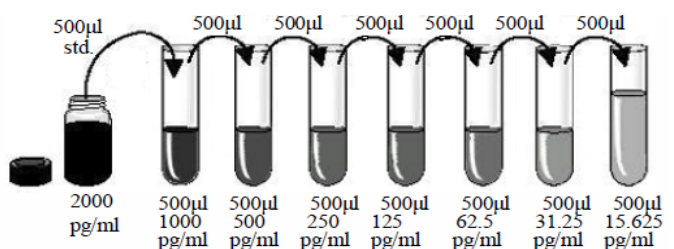
【使用方法】

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2000pg/ml)，然后根据需要
进行稀释，(建议标准曲线使用以下浓度：1000、500、250、125、62.5、31.25、15.625、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。

标准品稀释方法图例



- 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:

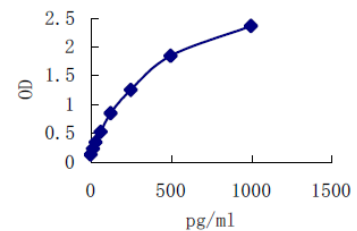
- 自动洗板机：要求注入的洗涤液为350 μ l，注入与吸出间隔20-30秒。洗板4次。
- 手工洗板：每孔加洗涤液350 μ l，静置30秒后甩尽孔内液体，在厚迭吸水纸上拍干。洗板5次。

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，空白孔可以不用)。
- 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，混匀后立即测量 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)

h IL-8



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-8达7 pg/ml。
- 特异性：不与ENA-78, BLC/BCA-1, GCP-2, GRO α , GRO β , GRO γ , IP-10, I-TAC, MIG, NAP-2, PF4, SDF-1 α 及SDF-1 β 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。