人 IFN alpha 2A双抗夹心ELISA抗体对试剂盒

请在实验前仔细阅读本说明书

产品货号: PA00067

规格: 5/10 plates

用途: 此试剂盒用于开发定量检测天然样本和重组样本中人 IFN alpha 2A浓度的双抗夹心试剂盒

说明: 此试剂盒包含足够的材料，在满足按说明书叙述方法稀释试剂、按说明书要求操作分析、使用说明书推荐的耗材及试剂的条件下，可以在至少5个或10个96孔板上完成ELISA实验

技术提示: 采用高品质的牛血清白蛋白是保证实验质量的关键
可添加适量动物血清来对样本稀释液进行优化

本产品仅用于科学研究，不适用于临床诊断.

USA: Proteintech@ptglab.com
UK & Europe: Europe@ptglab.com
China: Proteintech-CN@ptglab.com

其他所需实验器材

96孔板： 金灿华或赛普

封板膜

PBS： 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 8 mM Na_2HPO_4, 2 mM KH_2PO_4, pH 7.2-7.4, 0.2 µm filtered

CBS： 15 mM Na_2CO_3, 34 mM $NaHCO_3$, pH 9.6, 0.2 µm filtered （货号：PR10006）

洗涤液： 0.05% Tween® 20 in PBS, pH 7.2-7.4（货号：PR10007）

通用稀释液： 0.05% Tween® 20, 1% BSA in PBS, pH 7.2-7.4, 0.2 µm filtered （货号：PR10008）

显色底物TMB （货号：PK10004）

终止液： 2 M H_2SO_4 （货号：PR10009）

以上材料推荐辅助试剂盒（货号：PK10029）包含：包被液、洗涤液、通用稀释液、双组分TMB显色底物、终止液、板贴、96孔板。也可根据货号单独购买。

试剂盒组分及储存

将未开封试剂盒储存在-20°C，请勿使用已过期试剂盒

中文名称	规格(5 plates)	规格(10 plates)	配制及储存
人IFN alpha 2A捕获抗体浓缩液(500×) **	130 µL/支	250 µL/支	具体配制及储存方法请参照C of A
人IFN alpha 2A标准品 - 冻干粉状 *	50 ng/瓶	50 ng/瓶 x 2	
HRP标记检测抗体浓缩液(500×) **	130 µL/支	250 µL/支	

* 使用通用稀释液对标准品进行复溶，复溶过程避免产生气泡；复溶后分装成数管冻存于-80°C至-20°C，避免反复冻融
** 开盖前请离心

实验注意事项

避免皮肤接触终止液以及TMB 显色液；

在实验过程中，注意穿戴个人防护装备，如实验服，手套，口罩和护目镜；

请勿将不同批次的试剂进行混用，过期产品请勿使用；

在使用自动洗板机时，板孔加入洗涤液之后，设置30秒的浸泡程序，以提高分析的精确度。

USA: Proteintech@ptglab.com
UK & Europe: Europe@ptglab.com
China: Proteintech-CN@ptglab.com

试剂准备

小鼠抗人IFN alpha 2A捕获抗体(1×):

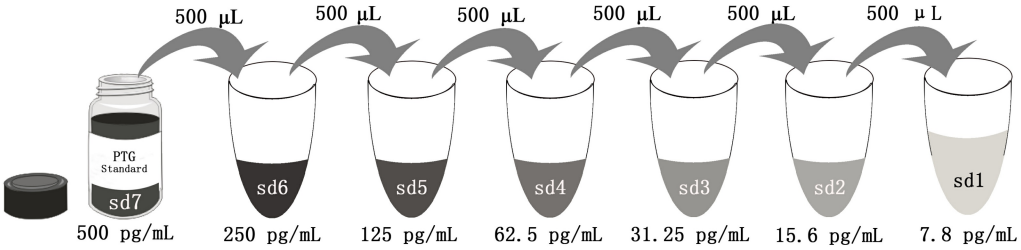
开盖前瞬时离心，按1:500比例进行稀释，稀释前根据预先计算实验所需的总量配制(100 μL/孔)，实际配制时应多配制1-2 mL。如24 μL捕获抗体浓缩液(500×)加12 mLCBS稀释液进行配制，轻轻混匀。

HRP标记小鼠抗人IFN alpha 2A检测抗体(1×):

开盖前瞬时离心，按1:500比例进行稀释，稀释前根据预先计算实验所需的总量配制(100 μL/孔)，实际配制时应多配制1-2 mL。如24 μLHRP检测抗体浓缩液(500×)加12 mL通用稀释液进行配制，轻轻混匀。

人IFN alpha 2A标准品:

使用1 mL通用稀释液复溶标准品并稀释至500 pg/mL，用通用稀释液2倍梯度稀释，具体操作如下：



实验步骤

实验前，需要将所需试剂在室温平衡20-30 min(抗体浓缩液、HRP标记检测抗体浓缩液不需要平衡室温，即用即取)；在进行标准品、样本以及不同试剂加样时，更换枪头，避免接触微孔板的内表面，不同的试剂，使用不同的加样槽。

1 包被：每孔加100 μL捕获抗体(1×)(参照试剂准备部分)至96孔板中，盖上覆膜，4℃孵育过夜。

2 封闭：

1）揭开封板膜(动作轻柔，避免动作过大导致液体溢出串孔)，弃液体，拍干；

2）每孔加入200 uL通用稀释液，盖上覆膜，37℃孵育2 h；

3 洗涤：

1）揭开封板膜(动作轻柔，避免动作过大导致液体溢出串孔)，弃液体，拍干；

2）洗涤液洗涤板条，每孔350-400 μL，洗涤后，甩掉液体拍干板条，重复此步骤4次，避免异物进入板孔以及板条干燥；

4 加样：分别设零孔、标准孔、待测样本孔。零孔加样本稀释液100 μL，余孔分别加梯度稀释的标准品或待测样本100 μL/孔，注意不要产生气泡(建议标准品和样本都做复孔，尽量避免实验误差，确保上样不间断，5-10 min完成加样)，酶标板盖上覆膜，37℃孵育2 h；

5 重复步骤3；

6 每孔加100 μLHRP标记检测抗体(1×)(参照试剂准备部分)，盖上封板膜，37℃孵育40 min；

7 重复步骤3；

8 显色：每孔加TMB显色液100 μL，37℃避光显色 15-20 min(如果颜色偏浅，可适当延长显色时间，不超过30 min；保持显色底物始终处于避光状态，显色底物在加样前应是无色透明，如有变色，请勿使用)；

9 终止：每孔加终止液100 μL，蓝色变黄色。终止液与TMB显色液的加样顺序一致；(注意：眼睛和皮肤避免接触终止液)

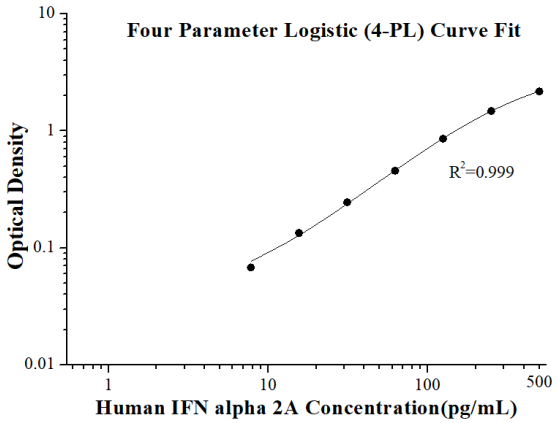
10 读数：以630 nm为校正波长，用酶标仪在450 nm波长测量各孔的光密度(OD值)。加入终止液后5 min内进行读数，若无630 nm波长，也可直接使用450 nm波长读数；

USA: Proteintech@ptglab.com
UK & Europe: Europe@ptglab.com
China: Proteintech-CN@ptglab.com

11 数据分析：每个标准品和样本的OD值需减去零孔的OD值，设置复孔，取其平均值。以标准品的浓度为横坐标，OD 值为纵坐标，使用专业软件(如Origin、ELISACalc等)进行四参数拟合(4-PL)，根据样本的OD值由标准曲线推算出拟合浓度，乘以稀释倍数得到样本的实测浓度。

实验参数

参考标曲图



特异性

本试剂盒特异性识别天然和重组人IFN alpha 2A，加入50 ng/mL以下细胞因子，无明显交叉反应

Human:

IL-28A	IFNA-α/β R1
IL-28B	IFNA-α/β R2
IL-29	IFNB1
IFNA1	IFNE
IFNA6	TYK-2

常见问题分析

标准曲线不佳

用于配制稀释液的BSA纯度不佳

标准品储存不当或配制不准确

洗板不完全或加样量不准确

孵育时间或温度不准确

重复性不好

洗板不完全或加样量不准确

试剂混合不均匀

显色低或不显色

用于配制稀释液的BSA纯度不佳

孵育时间或温度不准确

底物加入量不足

USA: Proteintech@ptglab.com
UK & Europe: Europe@ptglab.com
China: Proteintech-CN@ptglab.com