

## Human CXCL2/GRO $\beta$ ELISA Kit

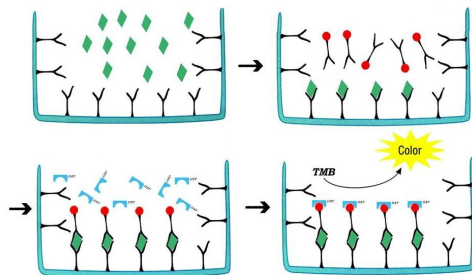
货号: BN50033

规格: 48T; 96T

本试剂盒用于定量检测人血清、血浆或细胞培养上清液等样本中天然和重组 CXCL2/GRO  $\beta$  浓度。使用前请仔细阅读说明书并检查试剂组分。

### 检测原理:

本实验采用双抗体夹心 ELISA。用抗人 CXCL2/GRO  $\beta$  单克隆抗体预包被酶板, 加入适度稀释的样本和标准品, 其中的 CXCL2/GRO  $\beta$  会与其单抗结合, 洗去游离成分; 加入生物素化的抗人 CXCL2/GRO  $\beta$  抗体, 抗人 CXCL2/GRO  $\beta$  抗体与结合在单抗上的人 CXCL2/GRO  $\beta$  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 CXCL2/GRO  $\beta$ , 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, CXCL2/GRO  $\beta$  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 CXCL2/GRO  $\beta$  浓度。



检测原理示意图

### 试剂盒组成:

| 试剂盒组成               | 96t           | 48t          | 配制        |
|---------------------|---------------|--------------|-----------|
| 1a 标准品              | 2 支           | 1 支          | 按说明书进行稀释  |
| 1b 标准品和标本稀释液        | 1 瓶           | 1 瓶          | 即用型       |
| 2a 浓缩生物素化抗体         | 2 支           | 1 支          | 按瓶签标识进行稀释 |
| 2b 生物素化抗体稀释液        | 1 瓶           | 1 瓶          | 即用型       |
| 3a 浓缩酶结合物 (避光)      | 2 支           | 1 支          | 按瓶签标识进行稀释 |
| 3b 酶结合物稀释液          | 1 瓶           | 1 瓶          | 即用型       |
| 4 浓缩洗涤液 20 $\times$ | 1 瓶           | 1 瓶          | 按瓶签标识进行稀释 |
| 显色剂 (避光)            | 1 瓶           | 1 瓶          | 即用型       |
| 终止液                 | 1 瓶           | 1 瓶          | 即用型       |
| 抗体包被板条              | 8 $\times$ 12 | 8 $\times$ 6 | 即用型       |
| 封板胶纸                | 4 张           | 2 张          | 即用型       |
| 说明书                 | 1 份           | 1 份          |           |

### 储存条件:

| 未启封的试剂盒                      | 4 $^{\circ}$ C 保存, 请于保质期内使用。                                  |
|------------------------------|---|
| 已启封或重新溶解的试剂                  | 4 $^{\circ}$ C 或常温保存  |
| 1b 标准品和标本稀释液                 | 可以整盒放入 4 $^{\circ}$ C 储存 1 个月。<br>2a 浓缩生物素化抗体和 3a 浓缩酶结合物需用现配。 |
| 2a 浓缩生物素化抗体 (100 $\times$ )  |   |
| 2b 生物素化抗体稀释液                 |   |
| 3a 浓缩酶结合物 (避光 100 $\times$ ) |   |
| 3b 酶结合物稀释液                   |   |
| 4 浓缩洗涤液 20 $\times$          | 重溶后分装, -20 $^{\circ}$ C 存放一个月, 避免反复冻融。稀释后的标准品使用后应丢弃, 不得重复使用。  |
| 显色剂 (避光)                     |   |
| 终止液                          | 实验中不用的板条应立即放回包装袋中, 密封干燥 4 $^{\circ}$ C 保存。                    |
| 标准品                          |   |
| 抗体包被板条                       |   |

以上储存条件均要求在试剂盒保质期内。

### 其它实验材料(不提供, 但可协助购买):

1. 酶标仪(450nm)
2. 高精度可调移液器及吸头: 0.5-10,2-20,20-200,200-1000 $\mu$ l。  
一次检测样品较多时, 最好用多通道移液器
3. 自动洗板机或洗瓶
4. 37 $^{\circ}$ C 温箱
5. 双蒸水或去离子水
6. 坐标纸
7. 量筒

### 注意事项:

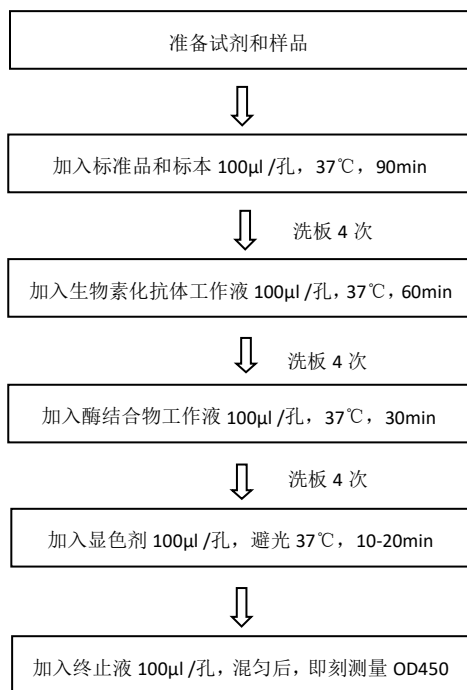
1. 试剂盒保存在 2-8 $^{\circ}$ C, 除复溶后的标准品, 其它成分不可冷冻。
2. 浓缩生物素化抗体(2a)、浓缩酶结合物(3a)装量极少, 运输中颠簸和可能的倒置会使液体沾到管壁或瓶盖。使用前请离心处理以使附着于管壁或瓶盖的液体沉积到管底。
3. 不同批号试剂不可混用。
4. 为避免交叉污染请使用一次性吸头。
5. 终止液和显色剂具腐蚀性, 避免皮肤及粘膜直接接触, 一旦接触到这些液体, 请尽快用大量水冲洗。
6. 使用干净的塑料容器配制洗涤液, 使用前充分混匀试剂盒里的各种成份及样品。
7. 洗涤酶标板时应充分拍干, 不要将吸水纸直接放入酶标反应孔中吸水。

本产品仅用于科研



4. 参考数据:

操作流程图:



操作要点提示:

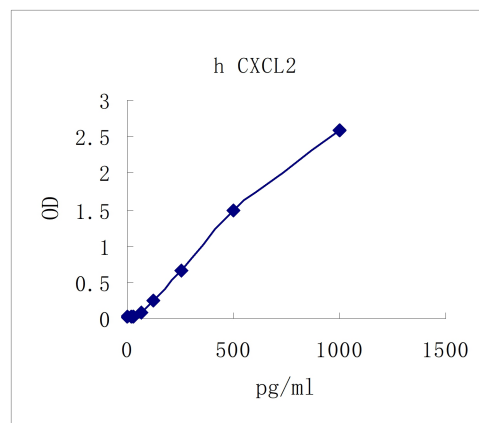
1. 配制各种试剂时要充分混匀, 但要避免产生大量泡沫, 以免加样时加入大量的气泡, 产生加样误差。
2. 为避免交叉污染, 在加入不同浓度的标准品、不同样品、不同试剂时谨记及时更换吸头。
3. 为了确保准确的结果, 在每次孵育前均需使用新封板胶纸封住反应孔。
4. 显色剂在添加之前, 应保持无色, 请勿使用已变为蓝色的显色溶液。最佳显色时间对标准曲线很重要, 肉眼可见前 3-4 孔有梯度蓝色, 后 3-4 孔差别不明显, 零孔无蓝色出现即可终止。
5. 每次检测均要做标准曲线, 根据样品待测因子的含量, 适当稀释或浓缩样本, 最好做预实验。

结果判断:

1. 每个标准品和标本的OD值应减去空白孔的OD值, 如果做复孔, 求其平均值。
2. 使用计算机软件以吸光度OD值为纵坐标(Y), 相应的CXCL2/GROβ标准品浓度为横坐标(X), 生成相应的标准曲线, 样品的CXCL2/GROβ含量可根据其OD值由标准曲线换算出相应的浓度。
3. 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算标本含量。

| 标准品浓度 (pg/ml) | OD值1  | OD值2  | 平均值   | 矫正值   |
|---------------|-------|-------|-------|-------|
| 0             | 0.017 | 0.015 | 0.016 | —     |
| 15.625        | 0.022 | 0.019 | 0.021 | 0.005 |
| 31.25         | 0.031 | 0.027 | 0.029 | 0.013 |
| 62.5          | 0.083 | 0.077 | 0.080 | 0.064 |
| 125           | 0.248 | 0.232 | 0.240 | 0.224 |
| 250           | 0.656 | 0.641 | 0.649 | 0.633 |
| 500           | 1.474 | 1.452 | 1.463 | 1.447 |
| 1000          | 2.589 | 2.497 | 2.543 | 2.527 |

数据仅供参考, 不同用户最佳显色时间会有所不同



本图仅供参考, 应以同次试验标准品所绘标准曲线为准

结果重复性:

板间, 板内变异系数均<10%。

灵敏度:

最低检测人 CXCL2/GROβ剂量小于 7pg/ml。最低检出量测定方法: 20 个零标准的平均 OD 值增加两个标准差, 再计算相应的浓度。

**ELISA检测常见问题分析及解决办法:**

| 问题                | 可能原因               | 解决办法  | 问题  | 可能原因                                  | 解决办法   |
|-------------------|--------------------|---|---|---------------------------------------|--|
| 无颜色               | 不同试剂盒或不同批号的试剂混合    | 重新检查试剂的标签, 确保所有组分都属于正使用的试剂盒中的。不能混用不同试剂盒或不同批号的试剂。  | 全部板子变成规则的蓝色                               | 不充分的洗涤/洗涤步骤被遗漏使没结合的 HRP 仍有残留          | 最好使用洗板机充分洗涤<br>检查每孔是否有残留的洗液或加样量是否准确  |
|                   | 漏加酶                | 检查操作流程, 注意不要漏加  |   | 太多的酶结合物                               | 检查稀释度, 必要时进行效价测定   |
|                   | HRP 酶污染了叠氮钠        | 使用新配制的试剂, 禁含叠氮钠   | 封板膜或试剂容器被重复使用, 导致 HRP 残留, 使 TMB 底物产生非特异蓝色 | 使用新封板膜, 每步使用不同的试剂容器                   |  |
|                   | 试剂配制/使用有误          | 重做试验, 严格按说明书操作, 每次配制和使用前看清标签  | 高 CV 值花板                                  | 操作不慎或洗涤不充分                            | 按说明书洗板、加样和显色, 洗板尤为重要<br>确定每两步骤间酶标板应保持湿润<br>使用封板膜封口, 注意每步使用新鲜的封板膜                   |
| 显色弱               | 超过有效期的产品可能会产生很弱的信号 | 检查产品有效期   |   | 出现干板, 没有使用封板膜、封板膜重复使用                 | 检查并校准移液器, 每次取样必须更换吸头   |
|                   | 缩短孵育时间能使实验信号变弱     | 检查孵育时间  |   | 移液器不准确, 吸头重复使用                        |  |
|                   | 使用了被污染的试剂          | 检查试剂是否被污染   | 标准曲线可得到, 但两点之间区别很差 (低或平的曲线)               | 酶结合物不足                                | 检查稀释度, 必要时进行效价测定   |
|                   | 仪器设定不正确, 滤光片不匹配    | 仪器是否设定正确, 滤光片的使用等   |   | 检测抗体不足                                | 检查稀释度, 必要进行效价测定<br>延长底物孵育时间  |
|                   | 洗涤操作不规范            | 洗涤不充分, 使用手工洗板常出现<br>洗瓶洗涤, 每孔应完全充满洗涤缓冲液, 倾出时应迅速<br>若用洗板机, 应校准并设定足够充满每孔的体积量。板内侧不应接触设备<br>检查每孔是否有残留的洗液或每孔加样量的体积是否准确<br>可在两次洗板之间加 30 秒的浸泡 |   | 板子显色不足                                | 使用推荐品牌的底物溶液  |
|                   |                    |   |   |                                       | 标准曲线很好, 但没有任何期望的阳性信号   |
| 标准曲线很好, 但标本的判读值很高 |                    |   |   | 标本基质遮盖检测<br>将标本至少做 1:2 相应的稀释, 或进行系列稀释 |  |
| 高背景               | 实验中孵育温度和时间不适当      | 确定每一试验步骤的孵育温度和时间是否适当  | 标准曲线中含的待检物质水平超过实验范围                       | 稀释标本                                  |  |
|                   | 酶加量过多              | 加酶前查看移液器调节量是否准确<br>检查稀释度, 若必要进行效价测定   | 边缘效应                                      | 工作环境温度不均衡<br>避免将板子在变化温度环境中孵育          |  |
|                   |                    |   | 漂移  | 实验过程中出现间断                             | 整个实验应连续操作, 在实验开始前将所有的标准品和标本做适当的准备。   |
|                   |                    |   |   | 试剂没有按说明书平衡至室温                         | 在所有试剂加入孔前, 确保它们已平衡至室温, 除非说明书中有另外的要求。   |
|                   |                    |   | 是否可更改试剂盒所提供的操作步骤?                         |                                       | 一般厂商为确保最高的灵敏度, 对试剂盒都进行了优化, 为确保每一试剂盒实验的规范性应按说明书操作。                                  |
|                   |                    |   | 是否可混用不同批次试剂盒中的试剂?                         |                                       | 不可以, 绝大多数试剂在每批试剂盒中是特异的, 若有问题可与厂家或代理商联系。  |
|                   |                    |   | 是否可增加或减少标本的体积?                            |                                       | 商品化的试剂盒所需加入的标本体积是优化的, 应按说明书操作, 不建议更改所加标本体积。  |
|                   |                    |   | 是否可重新确定自己的标准曲线的点?                         |                                       | 可以。说明书上有建议制备标准曲线时标准品的稀释度, 可改变稀释倍数和增加曲线的点, 但是必须在实验范围内, 高于试剂盒中最高标准品的点和低于灵敏度以下的点是无效的。 |