

小鼠白细胞介素 18 (IL-18) 酶联免疫吸附测定试剂盒

Mouse IL-18 ELISA Kit

本产品冰袋运输; 保存于 4 °C (其中 **标准品** 需保存于 -20 °C), 保质期 6 个月; **标准品** 如存放于 4 °C, 1~2 周内有效。

货号规格

HJ188 96次

产品特点

- 高灵敏度**——多次重复结果表明, 最小检出量为 16.8 pg/mL;
- 高特异性**——与小鼠 IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-12 p70、IL-13、IL-17 及人 IL-18 均无交叉反应;
- 重复性好**——板内, 板间变异系数均小于 10%。

产品简介

本试剂盒采用双抗体夹心 ELISA 法检测小鼠来源样品中白细胞介素 18 (IL-18) 的浓度。小鼠 IL-18 捕获抗体已经预包被于酶标板上, 当加入样品或标准品时, 其中的小鼠 IL-18 会与捕获抗体结合, 而其它游离成分则会通过洗涤被除去。接着, 再加入辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的抗小鼠 IL-18 抗体后, 抗小鼠 IL-18 抗体与小鼠 IL-18 接合, 形成夹心的免疫复合物, 其它游离成分则通过洗涤被除去。最后加入显色剂, 若样品中存在小鼠 IL-18, 则会形成免疫复合物, 其上连接的 HRP 会催化无色的显色剂氧化生成蓝色物质, 而后加入终止液, 最终产物呈黄色。通过酶标仪检测, 读其 450nm 处的 OD 值, 小鼠 IL-18 浓度与 OD450 值之间呈正比, 通过标准品绘制标准曲线, 对照未知样品中 OD 值, 即可计算出样品中小鼠 IL-18 浓度。

背景简介

白细胞介素 18 (IL-18) 是一种 18 kDa 的细胞因子, 结构上与 IL-1 极其相似, 对 T 细胞的活化有重要影响。IL-18 的前体缺少信号肽, 可由 IL-1 β 转换酶 (ICE) 裂解为成熟的 IL-18。树突状细胞、活化的巨噬细胞、凯夫勒细胞、角化细胞、肠内皮细胞、格根包尔氏细胞及肾上腺皮质细胞等都可以产生 IL-18, 其中角化细胞是其最主要的产生源。IL-18 可以与 IL-12 协同强烈刺激 T 辅助细胞产生 IFN- γ 。当然, IL-18 也有许多其它的效用, 包括刺激外周血中由单核细胞产生的 IFN- γ 和 GM-CSF 水平的升高, 刺激 T 细胞产生 Th1 类的细胞因子如 IL-2、IFN- γ 和 GM-CSF 等, 提高 Th1 类的细胞表面的 Fas 配体的表达。此外, 在治疗肿瘤、感染和自身免疫方面, IL-18 也是一个重要的预后指标。

产品内容

组分	体积或数量
小鼠 IL-18 预包被板	12 条
标准品稀释液 (20 \times)	20 mL
小鼠 IL-18 标准品	≥ 2 支 (冻干)
HRP 标记的小鼠 IL-18 抗体	10 mL
浓缩洗涤液 (20 \times)	30 mL
显色剂 TMB	10 mL
终止液	5 mL
封板胶纸	3 张

操作步骤

◆ 样品制备

1. 根据样品种类选择相应的处理方法:
 - A. **血清样品:** 将全血在室温下静置 0.5~2h, 待其自然凝固并析出血清后, 离心取黄色上清即可 (4°C, 1000~2000×g, 10 min), 注意请勿吸取沉淀, 制备好的血清需置于冰上待用, 请勿在其中添加任何防腐剂或抗凝剂;
 - B. **血浆样品:** 使用 EDTA 对全血进行抗凝处理后, 混合均匀置于冰上, 离心取黄色上清即可 (4°C, 1000~2000×g, 10 min), 注意请勿吸取沉淀, 制备好的血浆需置于冰上待用;

注意: ① 样品在 2~8°C 下保存请勿超过 24h, 如需长期存放 (3 个月以上), 应冻存在 -20°C。使用过程中请避免反复冻融;

② 请保证待测样品清澈透明, 检测前如发现样品中有悬浮物, 需通过离心去除;

③ 为了保证检测结果准确, 请勿使用溶血、黄疸、高血脂或污染的样品。

◆ 检测准备工作

2. 试剂盒自冰箱取出后, 请置于室温平衡 20 min; 检测完成后, 剩余试剂请及时置于 4°C 保存;
3. 将 **浓缩洗涤液 (20×)** 用双蒸水或去离子水稀释为 1× 洗涤液;
4. 将 **标准品稀释液 (20×)** 用双蒸水或去离子水稀释为 1× 标准品稀释液;
5. 按标准品标签上注明的复溶体积, 用 1× 标准品稀释液复溶使标准品终浓度达到 1,500 pg/mL, 室温操作, 请**严格控制**在 25~28°C, 静置 15~20 min 后轻轻混悬, 用移液器吸打数次, 使其彻底溶解, 然后按下表用 1× 标准品稀释液倍比梯度稀释后依次加入检测孔中。(最高浓度为 1,500 pg/mL, 将 1× 标准品稀释液作为浓度 0 pg/mL。)

管号	稀释液用量 (μL)	复溶后标准品用量 (μL)	标准品的最终浓度 (pg/mL)
A	0	250	1,500
B	250	250	750
C	250	250 (从 B 管中取)	375
D	250	250 (从 C 管中取)	187.5
E	250	250 (从 D 管中取)	93.75
F	250	250 (从 E 管中取)	46.875
G	250	0	0

注意: 标准品复溶加样后, 剩余部份请丢弃。

◆ 检测流程

6. 通过计算确定一次实验所需的板条数, 取出所需板条放置于框架内, 多余的板条请放回铝箔袋密封, 保存于 4°C;

注意: ① 标准品和样品建议做双复孔检测;

② 建议设置本底校正孔, 即空白孔, 只加入相应体积的 **显色剂 TMB** 和 **终止液** 即可;

③ 每次实验均需绘制标准曲线。

将样品和不同浓度标准品 (100 μL/孔) 分别加入相应孔中, 用封板胶纸封住反应孔, 室温孵育 120 min。细胞上清样品和尿液样品可用 1× 标准品稀释液进行相应稀释, 稀释倍数请根据预

实验确定；对于血清或血浆样品，需稀释 5 到 30 倍，如无明确范围，建议用 1×标准品稀释液从 5 倍开始稀释；

注意：① 请查阅相关文献确定样品中待检测蛋白的大致浓度，若其大于或小于本试剂盒的最高或最低标准品浓度，请将样品适当稀释或浓缩后再进行检测；

② 整个加样过程不宜超过 10 min，否则可能会影响检测结果。

7. 洗板 3 次(不要超过 3 次)，每孔 1×洗涤液用量为 300 μL，注入与吸出间隔 15~30s，洗完后将板倒扣在厚吸水纸上拍干；

注意：洗涤过程至关重要，洗涤不充分会导致结果产生较大误差。

8. 加入 HRP 标记的小鼠 IL-18 抗体(100 μL/孔，无需稀释)。用封板胶纸封住反应孔，室温孵育 60 min；

9. 洗板 3 次(不要超过 3 次)，方法同步骤 8；

10. 加入 显色剂 TMB(100 μL/孔)，避光室温孵育 10~20 min；

注意：在保存和使用时，请勿将 TMB 接触氧化剂和金属。

11. 加入 终止液(50 μL/孔)，混匀后即刻使用酶标仪测量 OD450，同时设定 540 nm 或 570 nm 作为校正波长，即可计算得到校正吸光度值(OD450-OD540 或 OD450-OD570)；

注意：读取 OD 值建议在 10 min 内完成。

◆ 数据分析

12. 绘制标准曲线。以标准品浓度作横坐标，OD 值作纵坐标，利用计算机软件作四参数逻辑(4-PL)曲线拟合创建标准曲线，通过样品的 OD 值即可在标准曲线上计算出其相应浓度。

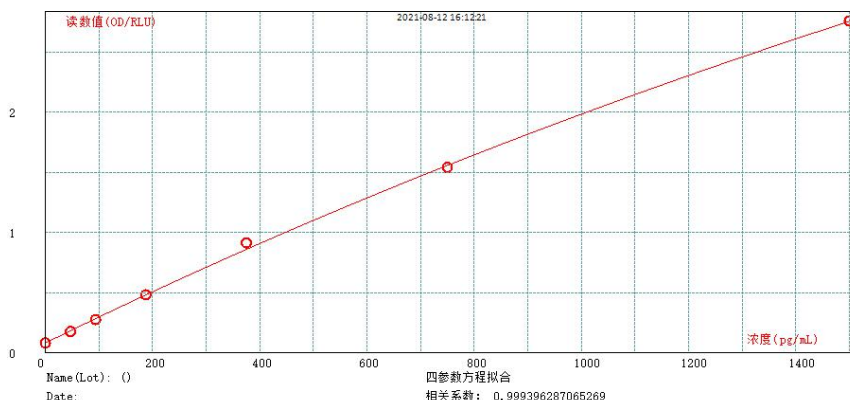
注意：① 复孔 OD 值在 20% 的差异范围内结果才有效，复孔 OD 值取平均后可作为测量值；

② 每个标准品或样品的 OD 值应减去本底校正孔的 OD 值；

③ 若样品 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。

◆ 标准曲线范例

小鼠白细胞介素 18(IL-18)参考标准曲线



注意：本图仅供参考，应以同次试验标准品所绘标准曲线计算样品含量。

注意事项

1. **浓缩洗涤液** 低温情况下可能会出现结晶，请水浴加热使结晶完全溶解后再配制工作液；
2. 严禁混用不同批号试剂盒的组分；
3. 加样过程请避免产生气泡，实验操作过程中一定要保证试剂充分混匀，否则会使结果产生较大误差；
4. 说明书中提到的室温条件，请严格控制在 25~28℃；
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作；
6. 本产品仅限科研使用。

版本号：21C24