

小鼠免疫球蛋白-E 酶联免疫吸附检测试剂盒

(Mouse IgE ELISA Kit)

产品编号: DE5116

规格: 96T

检测范围: 31.2pg/ml-2000pg/ml

特异性: 特异检测小鼠 IgE

灵敏度: <31.2pg/ml

储存条件: 2-8℃ (频繁使用时) 或者 -20℃ (长期不使用时)

保质期: 6 个月 (2-8℃), 12 个月 (-20℃)

用途: 用于定量分析小鼠血清、血浆或细胞培养上清中 IgE 浓度

产品简介

免疫球蛋白 E (Immunoglobulin E, IgE) 是一种免疫球蛋白亚型, 主要由浆细胞产生。在生理条件下, IgE 在抵御病毒、细菌、真菌和寄生虫感染中发挥重要作用。在异常条件下, IgE 的分泌也会引起 I 型超敏反应, 导致组织损伤。IgE 的分泌受抗原、细胞因子和核分裂因子的刺激而增加。各种免疫调节相关通路的激动剂或抑制剂也可以对的 IgE 分泌发挥重要调节作用。

拜尔迪提供的 Mouse IgE ELISA Kit 是典型的双抗夹心法酶联免疫吸附测定试剂盒 (Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ELISA)。样品加入测定孔中, IgE 被特异性吸附到预先包被的单克隆抗体上, 然后针对其它表位的生物素标记的检测抗体再特异性结合到 IgE 上, 辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素再特异性结合到生物素上, 最后经 TMB 底物显色, 即可通过标准曲线和样品吸光度对 IgE 浓度进行定量。

试剂盒组成

Components	Size
Mouse IgE Standard	10ng
Mouse IgE Capture Antibody Coated Plate	96Wells
Mouse IgE Detection Antibody(100×)	125μl
HRP-Streptavidin(100×)	125μl
Sample Diluent Solution	30ml
Detection Antibody Diluent Solution	12ml
HRP-Streptavidin Diluent Solution	12ml
TMB Solution	12ml
Stop Solution	12ml
Wash Buffer(20×)	25ml

需要而未提供的试剂和器材

1. 去离子水
2. 系列可调节移液器及吸头
3. 干净的试管或离心管
4. 酶标仪

样品的准备

1. 培养细胞上清：贴壁细胞直接取细胞培养基分析即可；悬浮细胞 $300\times g$ 离心除去沉淀，取上清分析。
2. 血浆：采用 EDTA、柠檬酸盐或肝素抗凝，抽血后 30 分钟内 $1000\times g$ 离心取上清。
3. 血清：用干净试管或离心管收集血液，室温凝固 1 小时， $2000\times g$ 离心取上清。
4. 标本立即分析或 -20°C 及以下温度保存。

试剂的准备

1. 小鼠 IgE 标准品(Mouse IgE Standard)配制：在使用前 10 分钟配制，加入 1ml 样品稀释液(Sample Diluent Solution)到标准品管中，将 IgE 标准品配制为 10ng/ml，然后吸取部分标准品依次将标准品稀释为 2000pg/ml、1000pg/ml、500pg/ml、250pg/ml、125pg/ml、62.5pg/ml、31.2pg/ml。剩余 10ng/ml 标准品请 -20°C 保存。
2. 生物素标记的小鼠 IgE 检测抗体(Mouse IgE Detection Antibody)工作液配制：在使用前 10 分钟配制，利用检测抗体稀释液(Detection Antibody Diluent Solution)将生物素标记的小鼠 IgE 检测抗体稀释 100 倍。
3. 辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素(HRP-Streptavidin)工作液配制：在使用前 10 分钟配制，利用辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素稀释液(HRP-Streptavidin Diluent Solution)将辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素稀释 100 倍。
4. 洗涤液(Wash Buffer)的工作液配制：利用去离子水将洗涤液稀释 20 倍。

测定方法

1. 取出酶标板(Mouse IgE Capture Antibody Coated Plate)，设置空白调零孔、标准曲线孔和样品孔。
2. 在空白调零孔中加入样品稀释液，在标准曲线孔中加入系列浓度标准品，在样品孔中加入正确稀释后的样品，体积均为 100 μl ； 37°C 孵育 1 小时。
3. 各孔加入 300 μl 洗涤液清洗酶标板，然后利用吸水纸吸干或甩干，重复 3 次。
4. 各孔加入 100 μl 生物素标记检测抗体工作液， 37°C 孵育 1 小时。

5. 各孔加入 300 μ l 洗涤液清洗酶标板，然后利用吸水纸吸干或甩干，重复 3 次。
6. 各孔加入 100 μ l 辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素工作液，37 $^{\circ}$ C 孵育 30 分钟。
7. 各孔加入 300 μ l 洗涤液清洗酶标板，然后利用吸水纸吸干或甩干，重复 4 次。
8. 各孔加入 100 μ l TMB 反应液(TMB Solution)，37 $^{\circ}$ C 孵育 10-20 分钟。
9. 各孔加入 100 μ l 的终止液(Stop Solution)终止反应。
10. 酶标仪测定 450nm 波长的吸光度。

数据处理

利用标准品浓度为横坐标，OD 值为纵坐标制作标准曲线，并获得横纵坐标之间的函数关系式。然后利用各样品的 OD 值计算样品的 IgE 浓度。

注意事项

1. 用户在初次使用试剂盒时，应将小体积试剂离心数分钟，以便试剂集中到管底。
2. 要严格避免操作过程中酶标板干燥，干燥会使酶标板上生物成份失活和下一步非特异反应强度加大。
3. 使用前 TMB 显色液为无色透明溶液，若发现颜色异常，请及时与厂家联系。
4. 为避免交叉污染，请勿重复使用移液器吸头。
5. 禁止混用不同批次试剂盒内的试剂和酶标板。
6. 每次实验剩余的酶标板条，应压紧铝箔袋密封条密封保存。
7. 测定未知 IgE 浓度范围样品时，应先利用少量酶标板条和加入不同稀释倍数样品及 2000pg/ml 标准品来评估样品 IgE 浓度范围，然后再进行批量测定正确稀释后的样品。
8. 本试剂盒仅用于科学研究，不得用于诊断和医疗。