

M5 HiPer Mouse IL-1 β ELISA KIT 使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 HiPer Mouse IL-1 β ELISA KIT	48T	MFM-01-T
M5 HiPer Mouse IL-1 β ELISA KIT	96T	MFM-01-01

【储存条件】 4°C 运输，4°C 保存。

【产品简介】

白介素-1 又称淋巴细胞激活因子,由 IL-1 α 和 IL-1 β 两种形式的多肽类细胞因子构成,与许多的细胞活性相关,包括增殖、分化以及凋亡,主要由血液中的单核细胞和巨噬细胞所产生,各种上皮细胞,内皮细胞和间质细胞也能产生 IL-1,但血液中的 IL-1 主要是由单核细胞和巨噬细胞所产生的 IL-1 β 。

由激活巨噬细胞产生的 IL-1 β ,经蛋白酶-1 酶解活化后,成熟的白介素-1 分子可以诱导白介素-2 的释放、促进 B 细胞成熟与增殖、诱导成纤维细胞生长因子活性,通过这些影响可以刺激胸腺细胞增殖,进而影响机体的免疫反应。研究表明白介素-1 蛋白与炎症初始反应相关,起到调节因子的作用,通常被认为是内源性致热原;细菌的内毒素或者一些非细菌的炎症因子都会诱导 IL-1 产生,然后被释放到局部组织,IL-1 β 含量升高表明机体内有组织损伤或者感染产生,如败血症等。对 IL-1 β 的研究主要集中在各种生理和病理免疫反应和炎症反应过程领域。

【试剂盒组分】

组分	规格 (96T/48T)
小鼠 IL-1 β 预包被板	12 条/6 条
样本分析缓冲液	5ml/3ml
标准品稀释液	10ml/5ml
小鼠 IL-1 β 标准品	2 支/1 支(冻干)*
小鼠 IL-1 β 生物素化抗体	10ml/5ml
亲和素连接的 HRP 酶	10ml/5ml
浓缩洗涤液 20 $\times$	30ml/15ml
TMB 底物	10ml/5ml
中止液	5ml/3ml
封板胶纸	3/2 张

【作用原理】

本试剂盒采用双抗体夹心 ELISA 法检测样本中小鼠 IL-1 β 的浓度。小鼠 IL-1 β 捕获抗体已预包被于酶标板上,当加入标本或参考品时,其中的小鼠 IL-1 β 会与捕获抗体结合,其它游离的成分通过洗涤的过程被除去。当加入生物素化的抗小鼠 IL-1 β 抗体后,抗小鼠 IL-1 β 抗体与小鼠 IL-1 β 接合,形成夹心的免疫复合物,其它游离的成分通过洗涤的过程被除去。随后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,亲合素连接的酶就会与夹心的免疫复合物连接起来;其它游离的成分通过洗涤的过程被除去。最后加入显色剂,若样本中存在 IL-1 β 将会形成免疫复合物,辣根过氧化物酶会催化无色的显色剂氧化成蓝色物质,在加入终止液后呈黄色。通过酶标仪检测,读其 450nm 处的 OD 值,小鼠 IL-1 β 浓度与 OD450 值之间呈正比,通过参考品绘制标准曲线,对照未知样本中 OD 值,即可算出标本中 IL-1 β 浓度。

【样本收集】

- 1.标本的收集请按下列流程进行操作;
 - A.细胞上清标本离心去除悬浮物后即可;
 - B.血清标本应是自然凝固后,取上清,避免在冰箱中凝固血液;
 - C.血浆标本,推荐用 EDTA 的方法收集;

D.若待测样本不能及时检测，标本收集后请分装，冻存于-20℃，避免反复冻融。

2.血清标本不应添加任何防腐剂或抗凝剂；

3.标本应清澈透明，检测前样本中如有悬浮物应通过离心去除。

4.请勿使用溶血，高血脂或污染的标本检测，否则结果将不准确。

注：小鼠血清或血浆样本请用样本分析缓冲液做倍比稀释后再检测。

【注意事项】

1.试剂盒请保存在2~8℃。

2.浓缩洗涤液因在低温下可能有结晶，请水浴加热使结晶完全溶解后再配制工作液。

3.标准品复溶加样后，剩余部份请丢弃。

4.底物请勿接触氧化剂和金属。

5.加样时，请及时更换枪头，避免交叉污染。

6.严禁混用不同批号的试剂盒组份。

7.充分混匀对保证反应结果的准确性很重要，在加液后请轻轻叩击边缘以保证混匀。

8.室温反应，请严格控制在25~28℃。

9.洗涤过程是至关重要的，洗涤不充分会使精确度下降并导致结果误差较大。

10.试验中标准品和样本检测时建议作双复孔。

11.加样过程中避免气泡的产生。

12.血清和血浆标本的检测时，检测抗体的孵育时间应适当延长。

【检验前准备】

1.试剂盒自冰箱中取出后应置室温（25~28℃）平衡20分钟；每次检测后剩余试剂请及时于2~8℃保存。

2.将浓缩洗涤液用双蒸水或去离子水稀释(1份加19份水)。

3.如有5X准品稀释液，请按所需量用双蒸水或去离子水稀释(1份加4水)。

4.标准品：按标签复溶体积加入标准品稀释液复溶使IL-1 β 终浓度达到1000pg/ml，室温反应，请严格控制在25~28℃，静置10~15分钟后轻轻混悬（建议抽吸几次）待彻底溶解，用标准品稀释液倍比梯度稀释后依次加入检测孔中。（标准曲线取七个点，最高浓度为1000 pg/ml,标准品稀释液直接加入作为0浓度。）



【洗涤方法】

自动洗板机或人工洗板：每孔洗涤液为300ul，注入与吸出间隔15-30秒。洗板5次。最后一次洗板完成后将板倒扣着在厚吸水纸上用力拍干。

【自备材料】

- 1.不同规格的加样枪及相应的枪头；
- 2.酶标仪；
- 3.自动洗板机；
- 4.去离子水或双蒸水；

【操作步骤】

1.通过计算并确定一次性实验所需的板条数，取出所需板条放置在框架内，暂时用不到板条请放回铝箔袋密封，保存于4℃。

2.建议设置本底校正孔，即空白孔,设置方法为该孔只加TMB显色液和中止液。每次实验均需做标准品对照并画出标准曲线。

3.分别将样品或不同浓度标准品按照100 μ l/孔加入相应孔中，用封板膜封住反应孔，室温（25-28℃）孵育120分钟。对于血清血浆样本，先加50ul的样本分析缓冲液，再加50ul样本。如检测超出范围，请先加50ul的样本分析缓冲液，再加用标准品稀释液稀释后的样本50 μ l检测。请注意记录好样品的稀释倍数，此处加样量50ul相当于已稀释了2倍。

4.洗板5次，且最后一次置厚吸水纸上拍干。

5.加入生物素化抗体工作液(100ul/孔)。用封板胶纸封住反应孔，室温（25~28℃）孵育60分钟。

6.洗板5次，且最后一次置厚吸水纸上拍干。

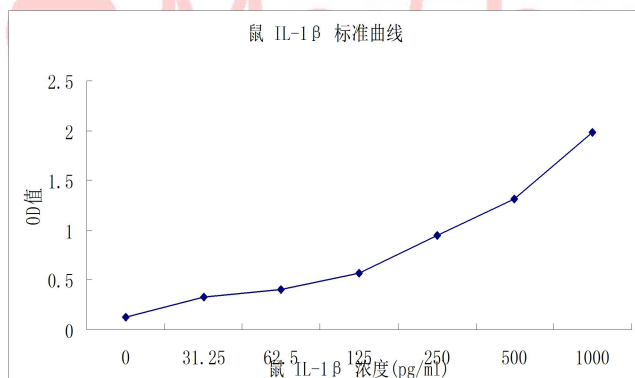
- 7.加入亲和素连接的HRP酶工作液(100ul/孔)。用封板胶纸封住反应孔，避光室温（25~28℃）孵育20分钟。
- 8.洗板5次，且最后一次置厚吸水纸上拍干。
- 9.加入显色剂TMB100ul/孔，避光室温（25~28℃）孵育20分钟。
- 10.加入终止液50ul/孔,混匀后即刻测量OD450值。

【结果分析】

- 1.复孔的值在20%的差异范围内结果才有效，复孔的值平均后可作为测量值。
- 2.每个标准品或标本的OD值应减去本底校正孔的OD值。
- 3.手工绘制标准曲线。以标准品浓度作横坐标，OD值作纵坐标，以平滑线连接各标准品的坐标点。通过标本的OD值可在标准曲线上查出其浓度。
- 4.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。

浓度pg/ml	典型OD值1	典型OD值2	OD平均值
0	0.1265	0.137	0.1317
31.25	0.3461	0.3225	0.3343
62.5	0.4044	0.4001	0.4022
125	0.6013	0.5441	0.5727
250	0.9679	0.9261	0.947
500	1.3583	1.2583	1.3083
1000	2.0169	1.9432	1.98

典型数值和参考曲线



小鼠 IL-1β 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标本含量。

【灵敏度，重复性和特异性分析】

- 1.灵敏度：多次重复结果表明，最小检出量为 2.6pg/ml。
- 2.特异性：与鼠 IL-1α、IL-1ra、IL-1 RI/Fc Chimera、IL-1 RII/Fc Chimera，人 IL-1β 等没有交叉反应。
- 3.重复性：板内，板间变异系数均<10%。

【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。