





武汉市东湖高新区光谷生物医药加速器C21栋3-5层

Phone: 027-67845390/1/2

Email: boster@boster.com

Web: www.boster.com

Mouse IL-2 ELISA Kit

产品编号: HSEK0398

规格: 96T

检测范围: 0.31-20pg/ml。

灵敏度: 0.005pg/ml

特异性: 系统和其它细胞因子无交叉反应。

保存: 2-8℃ (频繁使用时); -20℃ (长时间不用时)。

有效期: 6 个月(4℃); 12 个月(-20℃)。

用途: 用于体外定量分析小鼠血清、血浆、细胞培养上清。

工作原理

Interleukin-2 ,IL-2,白介素 2。IL-2 首先被发现对骨髓来源的 T 细胞有生长促进作用。此后,发现 IL-2 的作用谱越来越广,包括对 T、B 细胞、NK 细胞、LAK 细胞、单核巨噬细胞和少突胶质细胞都有直接的促进生长和分化作用。作用通过细胞膜上的 IL-2 受体而实现。由于 IL-2 对免疫系统所具有的广泛作用,其在临床上有着良好的应用。人的 IL-2 的前体有 153 个氨基酸。成熟形态有 133 个氨基酸。小鼠的 IL-2 成熟形态有 149 个氨基酸,分子量 17.2KDa。

博士德所提供的 IL-2 ELISA Kit 是典型的夹心法酶联免疫吸附测定试剂盒(Enzyme Linked-Immuno-Sorbent Assay, ELISA)。预先包被的抗体为单克隆抗体,克隆号 MP520F3。检测相抗体为多克隆抗体,经生物素(biotin)标记。样品和生物素标记抗体先后加入酶标板孔反应后,PBS 或 TBS 洗涤。随后加入过氧化物酶标记的亲和素反应;经过 PBS 或 TBS 的彻底洗涤后用底物 TMB 显色。TMB 在过氧化物酶的催化下转化成蓝色,并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和样品中的 IL-2 呈正相关。

内容	规格	数量
预包被抗小鼠 IL-2 抗体的 96 孔板	96T	1 板
重组小鼠 IL-2 冻干标准品	10ng/管	2 管
生物素标记抗小鼠 IL-2(100X)	100ul	1 管
亲和素-过氧化物酶复合物(ABC)(100X)	100ul	1 管
样品稀释液	30ml	1 瓶
抗体稀释液	12ml	1 瓶
ABC 稀释液	12ml	1 瓶
TMB 显色液	10ml	1 瓶
终止液	10ml	1 瓶
洗涤缓冲液(25X)	20ml	1 瓶
封板膜	-	4 张

试剂盒中内容(96 孔)

注意: 使用前请检查试剂盒中试剂的标签和数量与表格是否一致







武汉市东湖高新区光谷生物医药加速器C21栋3-5层

Phone: 027-67845390/1/2

Email: boster@boster.com

Web: www.boster.com

需要而未提供的试剂和器材

- 1. 标准规格酶标仪。
- 2. 自动洗板机。
- 3. 恒温箱
- 4. 微孔板恒温振荡器
- 5. 系列可调节移液器及吸头,一次检测样品较多时,最好用多通道移液器。
- 6. 干净的试管和 Eppendof 管。
- 7. 用去离子水将 25X 洗涤缓冲液稀释 25 倍,成 1X 洗涤缓冲液。

注意事项

- 1. 使用前 TMB 显色液应为无色透明溶液,若发现颜色异常,请及时与厂家联系。
- 2. 用户在初次使用试剂盒时,应将各种试剂管离心数分钟,以便试剂集中到管底。
- 3 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迅速失活。
- 4. 为免交叉污染,要避免重复使用手中的吸头和试管。
- 5. 禁止混用不同批次试剂盒内的试剂。
- 6. 本公司提供的 96 孔酶标板是单条可拆型酶标板,用户可按需求使用;剩余的酶标板请按保存条件贮存。
- 7. 揭封板膜和覆盖封板膜时应避免用力过大导致液体溅出。

洗板方法

手工洗板方法: 吸去(不可触及板壁)或甩掉酶标板内的液体; 在实验台上铺垫几层吸水纸, 酶标板朝下用力拍几次; 将 1X 洗涤缓冲液至少 300ul 注入孔内, 浸泡 1-2 分钟。根据需要, 重复此过程数次。

自动洗板:如果有自动洗板机,应在熟练使用后再用到正式实验过程中。

样品的准备和保存

样品如果不立即分析,应分装后冷冻保存,且避免反复冻融。

血清——用干净试管收集血液,室温凝固 30 分钟,离心 1000×g 15 分钟,收集血清。立即分析或分装后-20℃冷冻保存。

血浆——采用肝素、柠檬酸盐或 EDTA 抗凝,抽血后 30 分钟内离心 1000×g 15 分钟。立即分析或分装后-20℃冷冻保存。

细胞培养上清——1000×g 离心 5 分钟去除沉淀, 收集上清。

建议健康血清血浆样本两倍稀释检测,100ul样品稀释液加100ul样品。

试剂的准备和保存

A. IL-2 标准品的稀释和使用。

试剂盒提供2管标准品,每管10ng,每次使用1管。

- 1. 配制 10,000pg/ml 标准品:取 1ml 样品稀释液加入标准品管内,盖好后静置 10 分钟以上,然后颠倒/搓动以助溶解。
- 2. 配制 20pg/ml 标准品: 取 2ul 10,000pg/ml 的标准品加入有 0.998ml 样品稀释液的 Eppendorf 管中,混匀,做上标记。







武汉市东湖高新区光谷生物医药加速器C21栋3-5层

Phone: 027-67845390/1/2

Email: boster@boster.com

Web: www.boster.com

3. 配制 10pg/ml→0.312pg/ml 标准品:准备 6 只 Eppendorf 管,每管加 0.3ml 样品稀释液,分别标记上 10pg/ml,5pg/ml,2.5pg/ml,1.25pg/ml,0.625pg/ml,0.312pg/ml。取 0.3ml 20pg/ml 的标准品加入标记 50pg/ml 的管中,混匀后同样取出 0.3ml,加入下一只管中。余同此类推,直到最后一只样品管。

注意: 已经稀释的标准品(10,000pg/ml),应在 12 小时内使用。-20℃冷冻保存条件下,2 天内可以使用,但不得反复冻融。

- B. 生物素标记抗小鼠 IL-2 抗体工作液: 在使用前 2 小时内准备。
- 1. 根据每孔需要 100ul 计算总的用量(实际配制时应多配制 100-200ul)。
- 2. 按 1ul 生物素标记抗小鼠 IL-2 加抗体稀释液 99ul 的比例配制工作液。轻轻混匀。
- C. 亲和素-过氧化物酶复合物(ABC)工作液的准备: 在使用前1小时内准备。
- 1. 根据每孔需要 100ul 计算总的用量(实配时应多配制 100-200ul)。
- 2. 按 1ul 亲和素-过氧化物酶复合物 (ABC) 加 ABC 稀释液 99ul 的比例配制工作液。轻轻混匀。

操作程序

TMB 显色液在加入酶标板孔前应预先在 37℃中平衡至少 30 分钟。试剂或样品稀释时,**切不可忘记混匀**。每次检测都应该做标准曲线。用户须估计样品待测因子的含量,决定适当的稀释倍数。

- 1. 确定本次检测所需的已包被抗体的酶标板孔数目,并增加1孔作为TMB空白显色孔。总数 =样品数+9;做双份检测时×2。其余重包装好放入冰箱中。
- 2. 将 20pg/ml, 10pg/ml, 5pg/ml, 2.5pg/ml, 1.25pg/ml, 0.625pg/ml, 0.312pg/ml 的标准品各 100ul 依次加入一排 7 孔中, 1 孔只加样品稀释液的作为零孔。对于小鼠血清、血浆、细胞培养上清,直接加已用样品稀释液稀释的样品 100ul。
- 3. 酶标板加上封板膜,室温振荡反应 90 分钟,速度 500rpm,振幅 3mm。
- 4. 反应后用自动洗板机吸去酶标板内的液体,或甩去酶标板内液体,再对着吸水纸拍几下。**不 洗**。
- 5. 将准备好的生物素抗小鼠 IL-2 抗体工作液按每孔 100ul 依次加入(TMB 空白显色孔除外)。 酶标板加上封板膜,室温振荡反应 60 分钟,速度 500rpm,振幅 3mm。
- 6. 1X 洗涤缓冲液洗涤 3 次,每次浸泡 1 分钟左右(每孔洗液至少 300ul)。
- 7. 将准备好的 ABC 工作液按每孔 100ul 依次加入(TMB 空白显色孔除外)。酶标板加上封板 膜,室温振荡反应 30 分钟,速度 500rpm,振幅 3mm。
- 8. 1X 洗涤缓冲液洗涤 5 次,每次浸泡 1-2 分钟左右(每孔洗液至少 300ul)。
- 9. 按每孔 90ul 依次加入已在 37℃平衡 30 分钟的 TMB 显色液, 37℃避光反应 25-30 分钟(此步骤不需要振荡)。

注意:显色时间供参考,因用户实验室条件差异,最佳显色时间会有所不同。此时肉眼可见标准品的前 3-4 孔有明显的梯度蓝色,后 3-4 孔差别不明显。

- 10. 按每孔 100ul 依次加入终止液,此时蓝色立转黄色。
- 11. 用酶标仪在 450nm 测定 O.D.值。 有两种设定空白对照的方案:
- (1) 将 TMB 空白显色孔(只加 TMB 显色液和终止液)设为对照。所有的标准品和样品的吸光值







武汉市东湖高新区光谷生物医药加速器C21栋3-5层

Phone: 027-67845390/1/2

Email: boster@boster.com

Web: www.boster.com

减去 TMB 空白显色孔的吸光值后,在坐标纸上画出曲线,以吸光值作为纵坐标,以浓度作为横坐标。

- (2) 将零孔设为对照。所有的标准品和样品的吸光值减去零孔的吸光值后,得到的数据可以直接在坐标纸上画出曲线。
- 12. 根据样品的吸光值在坐标上找出对应的浓度。用户也可以使用各种应用软件来计算。**应记住** 由于样品稀释了 N 倍,其实际浓度应该×N。

操作程序总结:

- 1. 加样品和标准品,室温振荡反应 90 分钟。不洗。
- 2. 加生物素标记抗体,室温振荡反应分钟。1X洗涤缓冲液洗涤3次。
- 3. 加 ABC,室温振荡反应 30 分钟。1X 洗涤缓冲液洗涤 5 次。
- 4. TMB37°C反应 25-30 分钟。
- 5. 加入终止液,读数。

典型数据

TMB37℃反应 15 分钟。

(数据供参考,不同用户最佳显色时间会有所不同)

浓度	0.0pg/ml	0.312pg/ml	0.625pg/ml	1.25pg/ml	2.5pg/ml	5pg/ml	10pg/ml	20pg/ml
O.D.	0.053	0.126	0.188	0.301	0.536	0.973	1.747	2.880