



# Human Fas Ligand/TNFSF6 ELISA Instructions

CAT:EH0291

## 组分

|                         | CAT              | Volume       |
|-------------------------|------------------|--------------|
| ① CP (Coated Plate)     | EH0291CP         | 96 well      |
| ② S (Standard)          | EH0291S,S1~S7,S0 | 9 vial       |
| ③ DA (Detect Antibody)  | EH0291DA         | 6 ml/bottle  |
| ④ SH (Streptavidin-HRP) | ESH01            | 12 ml/bottle |
| ⑤ AB (Assay Buffer 1×)  | EAB01            | 12 ml/bottle |
| ⑥ TS (TMB Substrate)    | ETS01            | 12 ml/bottle |
| ⑦ SS (Stop Solution)    | ESS01            | 12 ml/bottle |
| ⑧ WB (Wash Buffer 10×)  | EWB01            | 50 ml/bottle |
| ⑨ SF (Sealer Film)      | ESF01            | 6 pieces     |

■ 注：试剂盒打开后，各组分可稳定 30 天。

## 试剂准备

### 1×洗液制备

吸取 10×浓缩洗液 50 ml 至 500 ml 量筒，加蒸馏水或去离子水至 500 ml，轻轻混匀。转移至干净瓶内。2-25℃贮存。

### 标准曲线的制作：

S1 至 S7 和 S0 直接用于血清和血浆样本检测。

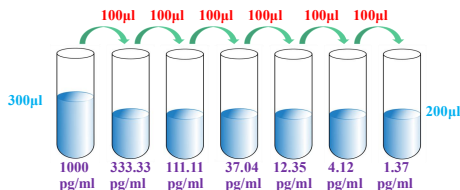
其他样品类型，使用样本制备缓冲液 (SPB，样品制备缓冲液) 制备标准曲线，例如细胞培养上清液，组织研磨液，细胞裂解物等。尿液样品使用 AB (检测缓冲液) 制备标准曲线。

人 Fas Ligand/TNFSF6 标准 EH0291S 10000 pg/ml 30 μl + 270 μl SPB 作为高标准 (1000 pg/ml)。每个稀释试管中加入 200 μl SPB，使用高标准制备 1: 2 稀释系列。在进行下一步转移之前彻底混合每个试管。SPB 用作零标准 (0 pg/ml)。

## 检测步骤

### 检测之前请将所有的试剂、样本恢复至室温

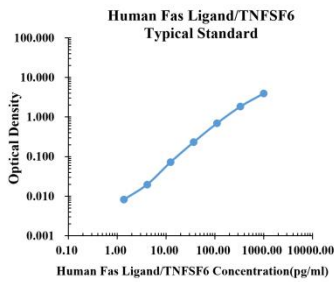
- ① 准备好所有需要的试剂及工作浓度标准品。
- ② 将不需要的板条拆卸下来，放回铝箔袋，重新封好封口。
- ③ 每孔加入 50 μl 检测缓冲液 (AB)。
- ④ 加入 50 μl 或 10 μl 的标准品 (S)、样本。保证连续加样，请不要间断。加样过程在 15 分钟内完成。
- ⑤ 每孔加入 50 μl 检测抗体 (DA)。
- ⑥ 使用封板膜 (SF) 封板。500 转/分钟振荡，室温孵育 1 小时。
- ⑦ 弃掉孔内液体，每孔加入 300 μl 洗液洗板，洗涤 4 次。每次洗板，在吸水纸上拍干。为获得理想的实验性能，必须彻底移除残留液体。
- ⑧ 加入 100 μl 辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素 (SH)。
- ⑨ 使用新的封板膜 (SF) 封板。500 转/分钟振荡，室温 (18-25℃) 孵育 30 分钟。
- ⑩ 重复步骤 7。
- ⑪ 每孔加入 100 μl 显色底物 TMB (TS)，室温孵育 5-30 分钟。
- ⑫ 每孔加入 100 μl 终止液 (SS)。
- ⑬ 在 30 分钟之内，酶标板 450 nm 波长测定 OD 值，校正波长设定为 570 nm 或者 630 nm。



攸克生命科学技术 (杭州) 有限公司

典型数据

每一次的检测，每一块微孔板都必须设立标准曲线。下方标准曲线仅作为示例展示。



| pg/ml   | O.D.   |        | Average | Corrected |
|---------|--------|--------|---------|-----------|
| 0.00    | 0.0129 | 0.0122 | 0.0126  |           |
| 1.37    | 0.0209 | 0.0206 | 0.0208  | 0.0082    |
| 4.12    | 0.0321 | 0.0325 | 0.0323  | 0.0198    |
| 12.35   | 0.0828 | 0.0862 | 0.0845  | 0.0720    |
| 37.04   | 0.2466 | 0.2461 | 0.2464  | 0.2338    |
| 111.11  | 0.7016 | 0.7212 | 0.7114  | 0.6989    |
| 333.33  | 1.8430 | 1.8680 | 1.8555  | 1.8430    |
| 1000.00 | 3.9250 | 4.0234 | 3.9742  | 3.9617    |

灵敏度

人 Fas Ligand/TNFSF6 的最低可检测浓度为 0.12 pg/ml (50 μl 上样量) 或 0.84 pg/ml (10 μl 上样量)。

10 个零浓度空白值 OD 的平均值加上两个 SD，计算最低可检测浓度。

精密度

■ 酶标板内精密度:3 个已知浓度的样本酶标板内重复测定 22 次，评估酶标板内的精密度。

■ 酶标板间精密度:3 个已知浓度的样本酶标板间重复检测 6 次，评估酶标板间的精密度。

|             | 酶标板内精密度 |       |       | 酶标板间精密度 |       |       |
|-------------|---------|-------|-------|---------|-------|-------|
|             | S1      | S2    | S3    | S1      | S2    | S3    |
| 样本数量        | 22      | 22    | 22    | 6       | 6     | 6     |
| 平均值 (pg/ml) | 16.9    | 101.4 | 310.4 | 18.1    | 102.9 | 329.4 |
| 标准差         | 0.5     | 3.0   | 7.4   | 0.4     | 2.5   | 12.6  |
| 变异系数 (%)    | 2.8     | 2.9   | 2.4   | 2.4     | 2.4   | 3.8   |

回收率

健康人血清加入 3 个不同浓度水平的人 Fas Ligand/TNFSF6，未加入人 Fas Ligand/TNFSF6 的血清作为本底，计算回收率。

回收率的范围从 96%至 127%，平均回收率为 112%。

稀释线性

5 份健康人血清加入高浓度的人 Fas Ligand/TNFSF6，并在标准曲线的动力学范围内进行系列稀释，评估检测的线性。

线性范围为 98%至 105%，总体平均回收率为 97%。

样本值

应用本试剂盒，检测 30 份健康志愿者的血清样本。

| 样本类型 | 检测样本数量 | 浓度范围 (pg/ml) | 可测百分率 (%) | 可测样本平均浓度 (pg/ml) |
|------|--------|--------------|-----------|------------------|
| 血清   | 30     | 8.47-38.67   | 100       | 18.25            |

n. d. =测不到浓度值。样本的浓度值低于灵敏度被认为测不到浓度值。