# Human IL-1R2 ELISA Instructions

## CAT：EH0332

## 组分

| | CAT | Volume |
|---|---|---|
| ❶ CP (Coated Plate) | EH0332CP | 96 well |
| ❷ S (Standard) | EH0332S,S1~S7,S0 | 9 vial |
| ❸ SD (Sample Diluent) | ESD01 | 15 ml/bottle |
| ❹ DA (Detect Antibody) | EH0332DA | 6 ml/bottle |
| ❺ SH (Streptavidin-HRP) | ESH01 | 12 ml/bottle |
| ❻ AB (Assay Buffer 1×) | EAB01 | 12 ml/bottle |
| ❼ TS (TMB Substrate) | ETS01 | 12 ml/bottle |
| ❽ SS (Stop Solution) | ESS01 | 12 ml/bottle |
| ❾ WB (Wash Buffer 10×) | EWB01 | 50 ml/bottle |
| ❿ SF (Sealer Film) | ESF01 | 6 pieces |

■ 注: 试剂盒打开后，各组分可稳定 30 天。

## 样本稀释

血清、血浆等样本需用样品稀释液稀释 10 倍。建议 10 倍稀释为 20 μl 样本+ 180 μl 样本稀释液。

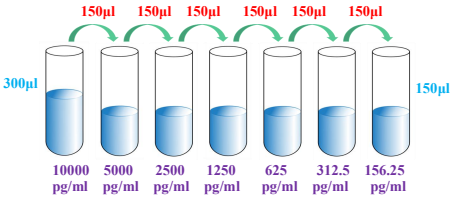
## 试剂准备

### ■ 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 IL-1R2 标准 EH0332S 100000 pg/ml 30 μl + 270 μl SPB 作为高标准（10000 pg/ml）。每个稀释试管中加入 150 μl SPB，使用高标准制备 1：1 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）。




### ■ 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。

## 检测步骤

**检测之前请将所有的试剂、样本恢复至室温**

❶ 准备好所有需要的试剂及工作浓度标准品。

❷ 将不需要的**板条**拆卸下来，放回铝箔袋，重新封好封口。

❸ 每孔加入 50 μl **检测缓冲液（AB）**。

❹ 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。

❺ 每孔加入 50 μl **检测抗体（DA）**。

❻ 使用**封板膜（SF）**封板。500 转/分钟振荡，室温孵育 1 小时。

❼ 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。

❽ 加入 100 μl **辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素（SH）**。

❾ 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.

❿ 重复步骤 7。

⓫ 每孔加入 100 μl **显色底物 TMB（TS）**，室温孵育 5-30 分钟。

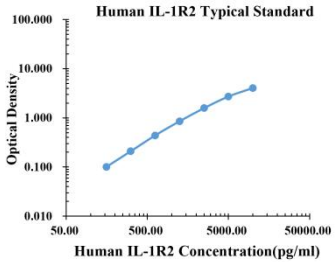
⓬ 每孔加入 100 μl **终止液（SS）**。

⓭ 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 | 0.0135 | 0.0145 | 0.0140 | |
| 156.25 | 0.1175 | 0.1120 | 0.1148 | 0.1008 |
| 312.50 | 0.2280 | 0.2201 | 0.2241 | 0.2101 |
| 625.00 | 0.4698 | 0.4395 | 0.4547 | 0.4407 |
| 1250.00 | 0.8763 | 0.8636 | 0.8700 | 0.8560 |
| 2500.00 | 1.6210 | 1.5660 | 1.5935 | 1.5795 |
| 5000.00 | 2.7980 | 2.6830 | 2.7405 | 2.7265 |
| 10000.00 | 4.0427 | 4.0936 | 4.0682 | 4.0542 |

## 灵敏度

人 IL-1R2 的最低可检测浓度为 3.24 pg/ml（50 μl 上样量）或 7.35 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 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 样本数量 | S1 | S2 | S3 | S1 | S2 | S3 |
| | 22 | 22 | 22 | 6 | 6 | 6 |
| 平均值（pg/ml） | 137.9 | 844.8 | 2612.8 | 156.8 | 932.3 | 2846.7 |
| 标准差 | 6.4 | 41.2 | 129.3 | 6.7 | 35.4 | 157.6 |
| 变异系数（%） | 4.7 | 4.9 | 4.9 | 4.2 | 3.8 | 5.5 |

## 回收率

健康人血清加入 3 个不同浓度水平的人 IL-1R2，未加入人 IL-1R2 的血清作为本底，计算回收率。

回收率的范围从 75%至 102%，平均回收率为 94%。

## 稀释线性

5 份健康人血清加入高浓度的人 IL-1R2，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 77%至 99%，总体平均回收率为 87%。

## 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 | 3172.90-7423.33 | 100 | 5663.90 |

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。