



Human IL-6 Super Sensitivity

ELISA Instructions

CAT: EHSS0001

组分

| | CAT | Volume |
|-------------------------|--------------------|--------------|
| ① CP (Coated Plate) | EHSS0001CP | 96 well |
| ② S (Standard) | EHSS0001S,S1-S7,S0 | 9 vial |
| ③ DA (Detect Antibody) | EHSS0001DA | 6 ml/bottle |
| ④ SH (Streptavidin-HRP) | ESHSS03 | 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

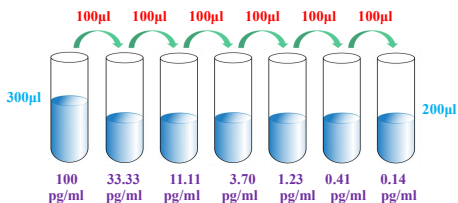
吸取 10× 浓缩洗液 50 ml 至 500 ml 量筒, 加蒸馏水或去离子水至 500 ml, 轻轻混匀。转移至干净瓶内。2-25℃ 贮存。

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 IL-6 标准 EHSS0001S 1000 pg/ml 30 μl + 270 μl SPB 作为高标准 (100 pg/ml)。每个稀释试管中加入 100 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)。



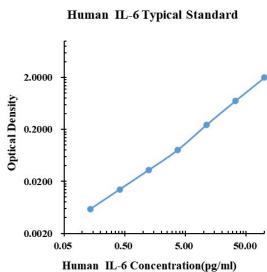
检测步骤

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 的标准品 (S)、样本。样本的加样体积与标准品保持一致, 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 洗板。
- ⑪ 每孔加入 100 μl 显色底物 TMB (TS), 10 μl 加样量室温孵育约 20 分钟; 50 μl 加样量室温孵育约 8 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。

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 | 0.0565 | 0.0573 | 0.0569 |
| 0.14 | 0.0621 | 0.0635 | 0.0628 |
| 0.41 | 0.0701 | 0.0717 | 0.0709 |
| 1.23 | 0.0919 | 0.0878 | 0.0899 |
| 3.70 | 0.1406 | 0.1335 | 0.1371 |
| 11.11 | 0.3042 | 0.2996 | 0.3019 |
| 33.33 | 0.7676 | 0.7670 | 0.7673 |
| 100.00 | 2.0951 | 1.9914 | 2.0433 |
| | | | 1.9864 |

灵敏度

人 IL-6 加样 10 μ l 的最低可检测浓度为 0.33 pg/ml；加样 50 μ l 的最低可检测浓度为 0.11 pg/ml。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 20 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。

| 样品数量 | 酶标板内精密度 | | | 酶标板间精密度 | | |
|-------------|---------|------|------|---------|-----|------|
| | S1 | S2 | S3 | S1 | S2 | S3 |
| 22 | 22 | 22 | 22 | 6 | 6 | 6 |
| 平均值 (pg/ml) | 1.6 | 10.1 | 31.0 | 1.7 | 9.9 | 29.9 |
| 标准差 | 0.1 | 0.3 | 0.8 | 0.1 | 0.4 | 1.1 |
| 变异系数 (%) | 6.8 | 2.7 | 2.5 | 6.7 | 3.8 | 3.6 |

回收率

健康人血清加入 3 个不同浓度水平的人 IL-6，未加入人 IL-6 的血清作为本底，计算回收率。

回收率的范围从 84%至 114%，平均回收率为 99%。

稀释线性

5 份健康人血清加入高浓度的人 IL-6，并在标准曲线的动力学范围内进行系列稀释，评估测定的线性。

线性范围为 92%至 105%，总体平均回收率为 98%。

样本值

应用本试剂盒，检测 30 份健康人的血清样本。

| 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 | 2.45-53.36 | 100 | 23.94 |

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。