



Mouse IL-1 beta Super Sensitivity

ELISA Instructions

CAT: EMSS0029

组分

	CAT	Volume
① CP (Coated Plate)	EMSS0029CP	96 well
② S (Standard)	EMSS0029S,S1-S7,S0	9 vial
③ DA (Detect Antibody)	EMSS0029DA	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

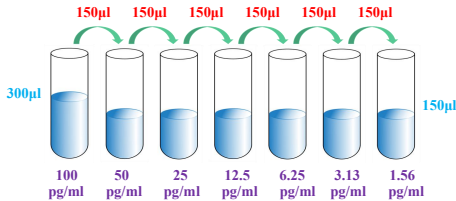
吸取 10×浓缩洗液 50 ml 至 500 ml 量筒, 加蒸馏水或去离子水至 500 ml, 轻轻混匀。转移至干净瓶内。2-25℃贮存。

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。

小鼠 IL-1 beta 标准 EMSS0029S 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 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)。



检测步骤

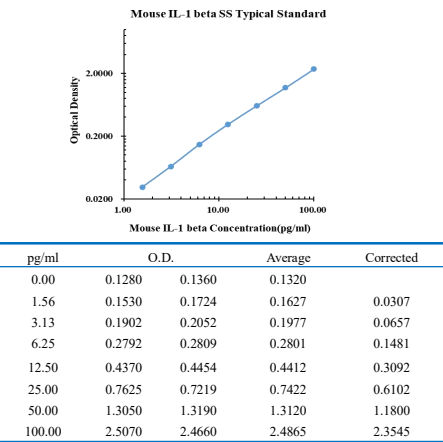
检测之前请将所有的试剂、样本恢复至室温

- 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 10 μl 或 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。

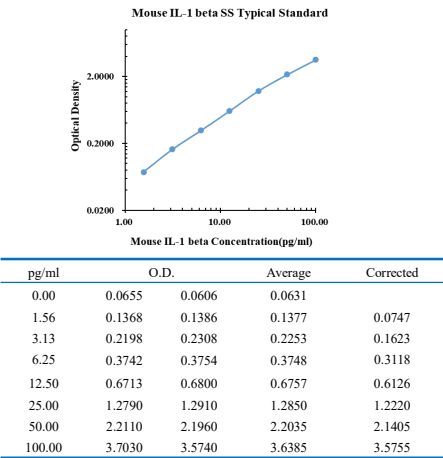
典型数据

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。

Mouse IL-1 beta 10μl 加样量标准曲线:



Mouse IL-1 beta 50μl 加样量标准曲线:



灵敏度

小鼠 IL-1 beta 加样 10μl 的最低可检测浓度为 0.36 pg/ml；加样 50μl 的最低可检测浓度为 0.12 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

- 酶标板内精密度的测定: 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。
- 酶标板间精密度的测定: 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)	1.8	9.7	29.2	1.8	9.7	29.4
标准差	0.1	0.5	1.3	0.1	0.5	1.4
变异系数 (%)	5.5	4.7	4.5	5.7	4.8	4.6

回收率

健康小鼠血清加入 3 个不同浓度水平的小鼠 IL-1 beta，未加入小鼠 IL-1 beta 的血清作为本底，计算回收率。

回收率的范围从 81%至 111%，平均回收率为 98%。

稀释线性

5 份健康小鼠血清加入高浓度的小鼠 IL-1 beta，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 92%至 107%，总体平均回收率为 99%。

样本值

应用本试剂盒，检测 30 份健康小鼠的血清样本。

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	0.18-3.93	100	1.47

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。