

抗人 GM-CSF IgG(GM-CSF IgG)试剂盒

(用于血清、血浆、细胞培养上清液和其它生物体内)

原理

本实验采用间接 ELISA 法。用 GM-CSF 抗原包被于酶标板上，标准品和样品中的 GM-CSF IgG 抗体与抗原结合，加入 HRP 标记的抗人 IgG，形成免疫复合物连接在板上，加入底物工作液显蓝色，最后加终止液硫酸，在 450nm 处测 OD 值，GM-CSF IgG 浓度与 OD 值成正比，可通过绘制标准曲线求出标本中 GM-CSF IgG 抗体的浓度。

试剂盒组成 (2-8℃保存)

酶标板 (Coated Wells)	96孔	酶标抗体工作液 (Enzyme Conjugate)	6ml
10×标本稀释液 (Sample Buffer)	12ml	20×浓缩洗涤液 (Wash Buffer)	50ml
标准品 (Standards): 200ng/ml	1瓶	底物工作液 (TMB Solution)	12ml
封板纸	一张	终止液 (Stop Solution)	12ml

准备试剂与收集血样

- 10×标本稀释液用蒸馏水作 1:10 倍稀释 (示例: 1ml 浓稀释液+9ml 蒸馏水)。
- 收集标本: 血清、血浆 (EDTA、柠檬酸盐、肝素抗凝)、细胞培养上清液、组织匀浆等尽早检测, 2-8℃保存 48 小时; 更长时间须冷冻 (-20℃或-70℃) 保存, 避免反复冻融。血清、血浆、细胞培养上清至少作 1: 100 稀释 (取 10ul, 加标本稀释液 990ul, 稀释 100 倍)。
- 标准品液配制: 设标准管 8 管, 第一管加标本稀释液 900ul, 第二至第八管加入标本稀释液 500ul。在第一管中加入 200ng/ml 的标准品溶液 100ul 混匀后用加样器吸出 500ul, 移至第二管。如此反复作对倍稀释, 从第七管中吸出 500ul 弃去。第八管为空白对照。
- 洗涤液: 用重蒸水 1:20 稀释 (示例: 1ml 浓缩洗涤液加入 19ml 的重蒸水)

检测程序

- 加样: 每孔各加入标准品或待测样品 100ul, 将反应板充分混匀后置 37℃30 分钟。
- 洗板: 用洗涤液将反应板充分洗涤 4-6 次, 向滤纸上印干。
- 每孔加酶标抗体工作液 50ul。将反应板置 37℃30 分钟。
- 洗板: 同前。
- 每孔加入底物工作液 100ul, 置 37℃暗处反应 15 分钟。
- 每孔加入 100ul 终止液混匀。
- 30 分钟内用酶标仪在 450nm 处测吸光值。

结果计算与判断

- 所有 OD 值都应减除空白值后再行计算。
- 以标准品 20、10、5、2.5、1.25、0.625、0.312、0 ng/ml 为横坐标, OD 值为纵坐标, 在坐标纸上作图, 画出标准曲线。
- 根据样品 OD 值在该曲线图上查出相应 GM-CSF IgG 含量, 再乘上稀释倍数即可。

试剂盒性能

- 灵敏度: 最小的 GM-CSF IgG 检测浓度小于 0.2ng/ml。
- 特异性: 可同时检测重组或天然的人 GM-CSF IgG。不与人其它细胞因子有交叉反应。
- 重复性: 板内、板间变异系数均小于 10%。

注意事项

- 以上标准孔及待测样品均建议做复孔, 每次测定应同时做标准曲线。
- 洗涤过程很关键。洗涤不充分将导致精确度误差及 OD 值错误地升高。
- 板条开封后剩余板条要再封好, 保持板条干燥。
- 本试剂盒宜置 4℃冰箱保存。
- 本试剂盒仅用于科研, 不能用于临床诊断!