

# 兔白介素 6 定量检测试剂盒

## Rabbit IL-6 ELISA kit

说明书修订日期：2020.11.20

Cat number: KGEB004/ KGEB004-1

Store at 4℃ for six months

For Research Use Only (科研专用)

### 一、试剂盒说明

本实验采用双抗体夹心ABC-ELISA法。用抗兔IL-6单抗包被于酶标板上，标准品与样品中的兔IL-6与单抗结合，加入生物素化的抗兔IL-6抗体，形成免疫复合物连接在板上，辣根过氧化物酶标记的Streptavidin与生物素结合，加入酶底物TMB，出现蓝色，加终止液硫酸，颜色变黄，在450nm处测OD值，兔IL-6浓度与OD值成正比，可通过绘制标准曲线求出标本中兔IL-6浓度。

### 二、试剂盒组份

组份	48T	96T
酶标板(已包被抗兔 IL-6)	48 孔	96 孔
样品稀释液	3ml	6ml
酶标试剂	5ml	10ml
显色剂A液	3ml	6ml
显色剂B液	3ml	6ml
终止液	3ml	6ml
洗涤液(20×)	15 mL	25mL
标准品	0.3ml×6管	0.3ml×6管
封板纸	2张	2张

注：标准品浓度依次为120、60、30、15、7.5、0 pg/ml.

### 三、试剂盒以外自备仪器和试剂

洗涤液：用重蒸水 1:20 稀释。

### 四、使用注意事项

1. 以上标准孔及待查样品均建议做复孔，每次测定应同时制作标准曲线。
2. 底物液使用前建议先行检查，若溶液颜色发蓝则已失效，弃去。
3. 本试剂盒取出的试剂在室温条件下使用，溶液应轻轻摇匀后使用。从冰箱中取出的浓缩洗涤液可能有结晶，这属于正常现象，加热使结晶完全溶解后再配制。
4. 本试剂盒含 2M 硫酸，不要将它与含叠氮化钠的废物混在一起。
5. 板条开封后剩余板条要再封好，保持板条干燥。
6. 不同批号的试剂盒组分不能混用。
7. 正确拿酶标板：不要接触板的底部，否则会影响度数。

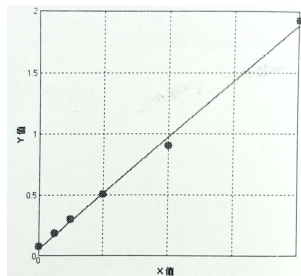
### 五、操作方法

1. 实验前 20 分钟从冰箱中取出试剂盒，以平衡至室温（20-25℃）；
2. 取出所需数量的板条，其余密封放回 4℃；
3. 标准品加样：设置标准品孔和样本孔，标准品孔各加不同浓度的标准品50μl；
4. 分别设空白孔（空白对照孔不加样品及酶标试剂，其余各步骤操作相同）、待测样品孔。在酶标包被板上待测样品孔中先加样品稀释液40μl,再加待测样品10μl（样品最终稀释度为5倍）。加样将样品加于酶标板孔底部，尽量不触及孔壁，轻轻晃动混匀。

5. 加酶：每孔加入酶标试剂100 $\mu$ l，空白孔除外；
6. 温育：用封板膜封板后置37 $^{\circ}$ C 孵育60min；
7. 洗涤：小心揭掉封板膜，弃去液体，甩干，每孔加满洗涤液，静置30s后弃去，反复5次，甩干；
8. 显色：每孔先加显色剂A 50 $\mu$ l，再加入显色剂B 50 $\mu$ l，轻微震荡混匀，37 $^{\circ}$ C 避光显色15min。
9. 终止：每孔加终止液50  $\mu$ l，终止反应（此时蓝色转黄色）；
10. 测定：以空白孔调零，450nm波长依序测定各孔中吸光度值（OD值），测定应在加终止液后5min内进行。

结果计算与判断：1.以标准物的浓度为横坐标，OD值为纵坐标，绘出标准曲线，根据样品的OD值由标曲查出相应的浓度；再乘以稀释倍数；或用标准物的浓度与OD值计算出标准曲线的直线回归方程式，将样品的OD值带入方程，计算出样品浓度，在乘以稀释倍数，即为样品的实际浓度。

2.



(仅供参考)

## 六、样品的准备和保存

样品如果不立即分析，应分装后冷冻保存，且避免反复冻融。

- 1、血清：用干净试管收集血液，室温凝固 10-20 分钟，离心 1000 $\times$ g 15 分钟，收集血清。立即分析或分装后-20 $^{\circ}$ C冷冻保存。
- 2、血浆：采用 EDTA 抗凝，抽血后 30 分钟内离心 1000 $\times$ g 15 分钟。立即分析或分装后-20 $^{\circ}$ C冷冻保存。
- 3、细胞培养、组织匀浆、体液：离心去除沉淀，立即分析或分装后-20 $^{\circ}$ C冷冻保存。

## 七、性能参数

灵敏度：最小可测兔IL-6达 0.1pg/ml

重复性：板内变异系数<10%

板间变异系数<15%