

# 人 IL-2 (HS) ELISA 试剂盒

## Human IL-2(HS) ELISA kit

Cat number: KGEHC003(HS)/KGEHC003-1(HS)

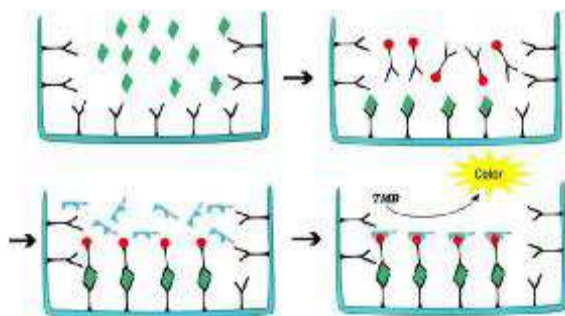
说明书修订日期: 2018.11.07

Store at 4°C 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ELISA法。抗人IL-2单抗包被于酶标板上，标本和标准品中的IL-2会与单抗结合，游离的成分被洗去。加入生物素化的抗人IL-2抗体和辣根过氧化物酶标记的亲合素。生物素与亲合素特异性结合；抗人IL-2抗体与结合在单抗上的人IL-2结合而形成免疫复合物，游离的成分被洗去。加入显色底物，若反应孔中有IL-2，辣根过氧化物酶会使无色的显色剂现蓝色，加终止液变黄。在450nm处测OD值，IL-2浓度与OD450值之间呈正比，可通过绘制标准曲线求出标本中IL-2浓度。



本试剂盒选用世界著名的生产厂家如R&D等原料，采用专业体外诊断试剂生产技术制造。适用于体外定量检测人血清、血浆或细胞培养上清液中天然和重组IL-2浓度。其他特殊体液标本请咨询。使用前请仔细阅读说明书并检查试剂组分。

如有疑问，请联系凯基生物科技发展有限公司，您将得到我们的技术支持！

### 二、试剂盒组份

组份	48T	96T	储存条件
抗体预包被酶标板(单孔可折板条)	8×6	8×12	4°C
冻干标准品 (1ng/支)	2 支	3 支	4°C
标准品和标本稀释液	12 mL	20.0 mL	4°C
浓缩生物素化抗体	1 支	1 支	4°C
生物素化抗体稀释液	10ml	16ml	4°C
浓缩酶结合物	1 支	1 支	4°C(避光)
酶结合物稀释液	10ml	16ml	4°C
浓缩洗涤液 20×	25 mL	50 mL	4°C
显色底物(TMB)	6 mL	12 mL	4°C(避光)
反应终止液(腐蚀性)	6 mL	12 mL	4°C
封板胶纸	3 张	6 张	

### 三、试剂盒以外自备仪器和试剂

1. 酶标仪(450nm波长滤光片)配打印机。
2. 进口品牌高精度加液器及一次性吸头: 0.5-10ul,2-20ul,20-200ul,200-1000ul
3. 洗板机或者洗液瓶。
4. 36℃恒温箱, 双蒸水或去离子水, 坐标纸。

### 四、使用注意事项

1. 试剂盒使用前请保存在2-8℃。复溶后的标准品若未用完, 请废弃。
2. 微量试剂运输中颠簸和可能的倒置, 会使液体沾到管壁或瓶盖。因此使用前请1000转/分离心1分钟, 以使附着管壁或瓶盖的液体沉积到管底。
3. 从冰箱中取出的浓缩洗涤液可能有结晶,属于正常现象, 微加热至40℃使结晶完全溶解后再配制洗涤液。(加热温度不要超过50℃)使用时洗涤液应为室温。
4. 若需要分次使用标准品应按照每一次用量分装, -20~-70℃贮存。避免反复冻融。
5. 不同批号的试剂盒组份避免混用(洗涤液和反应终止液除外)。
6. 充分轻微混匀对反应结果尤为重要, 最好使用微量振荡器(使用最低频率), 如无微量振荡器, 可在反应孵育前手工轻轻混匀。
7. 在试验中标准品和样本检测时建议作双孔检测。
8. 试验中所用的试管和吸头均为一次性使用, 严禁在不同的液体之间混用! 否则将影响试验结果。
9. 试验中请穿着试验服并带乳胶手套做好防护工作。特别是检测血液或者其他液体标本时, 请按国家生物试验室安全防护条例执行。

### 五、操作方法

#### 标本收集:

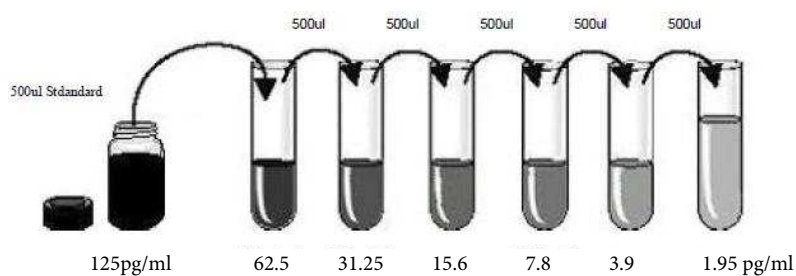
1. 收集血液的试管应为一次性的无热原, 无内毒素试管。
2. 血浆抗凝剂推荐使用EDTA。
3. 避免使用溶血, 高血脂标本。
4. 标本应清澈透明, 悬浮物应离心去除。
5. 标本收集后若不及时检测, 请按一次使用量分装, 冻存于-20℃, -70℃电冰箱内, 避免反复冻融, 3-6个月内检测。
6. 可根据标本的实际情况, 做适当倍数稀释(建议做预实验, 以确定稀释倍数)。

(注: 血清或血浆样本建议做 1: 2 稀释。)

#### 检测前准备工作:

1. 请提前20分钟从冰箱中取出试剂盒, 待其平衡至室温。
2. 将浓缩洗涤液用双蒸水或去离子水稀释(1:20)。未用完的放回4℃。
3. 标准品: 加入标准品/标本稀释液1mL至一支冻干标准品中, 静置15分钟, 待溶解后, 轻轻地混匀(浓度为1000 pg/mL)。然后根据需要用量(如200ul)进行稀释。(建议标准曲线使用以下浓度: 125, 62.5, 31.25, 15.6, 7.8, 3.9, 1.95, 0pg/mL)。复溶标准品原液(1000pg/mL)若未用完请分装后放入-20℃以下电冰箱内保存, 保存两个月。已稀释的标准品请废弃。
4. 生物素化抗体工作液: 按当次试验所需要得用量, 使用前20分钟, 以生物素化抗体稀释液稀释浓缩生物素化抗体(1:30)成工作浓度。当日使用。
5. 酶结合物工作液: 按当次试验所需要得用量, 使用前20分钟, 以酶结合物稀释液稀释浓缩酶结合物(1:30)成工作浓度。当日使用。

**标准品稀释方法图例：**(以500ul/管为例。也可根据实际用量来稀释，如200ul/管)



#### 洗涤方法:

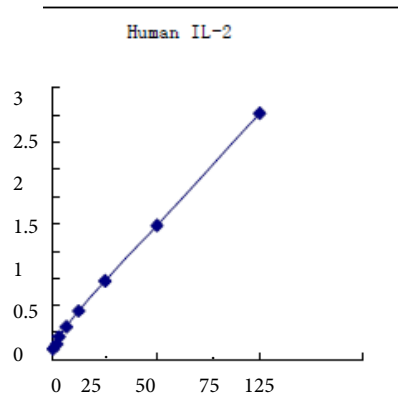
1. 自动洗板机：要求注入的洗涤液为350ul，注入与吸出间隔15—30秒。洗板5次。
2. 手工洗板：甩尽孔内液体，在洁净的吸水纸上拍干，每孔加洗涤液350ul，静置30秒后甩尽液体，在厚迭吸水纸上拍干。洗板5次。

#### 操作步骤:

1. 从已平衡至室温的密封袋中取出试验所需板条，未用的板条和干燥剂请放回铝箔袋内压实自封条，密封口袋，放回4℃。
  2. 空白孔加标本或标准品稀释液，其余相应孔中加标本或不同浓度标准品(100ul/孔)，用封板胶纸封住反应孔，36℃孵箱孵育90分钟。
  3. 提前前20分钟准备生物素化抗体工作液。
  4. 洗板5次。
  5. 空白孔加生物素化抗体稀释液，其余孔加入生物素化抗体工作液(100ul/孔)。用新封板胶纸封住反应孔，36℃孵箱孵育60分钟。
  6. 提前前20分钟准备酶结合物工作液。避光室温(22-25℃)放置。
  7. 洗板5次。
  8. 空白孔加酶结合物稀释液，其余孔加入酶结合物工作液(100ul/孔)。用新封板胶纸封住反应孔，36℃孵箱，避光孵育30分钟。
  9. 打开酶标仪电源，预热仪器，设置好检测程序。
  10. 洗板5次。
  11. 加入显色底物100ul/孔，避光36℃孵箱，避光孵育15分钟。
  12. 加入终止液100ul/孔，混匀后即刻测量OD450值(3分钟内)。在仪器保存读数结果并打印一份纸质结果。
  13. 实验完毕后将未用完的试剂按规定的保存温度放回电冰箱保存至有效期结束。
- 建议保存酶标板框，以备下次或者今后试验使用。

#### 结果判断:

1. 每个标准品和标本的OD值应减去空白孔的OD值。
2. 手工绘制标准曲线。以标准品浓度作横坐标，OD值作纵坐标，以平滑线连接各标准品的坐标点。通过标本的OD值可在标准曲线上查出其浓度。
3. 若标本 OD 值高于标准曲线上限，应当稀释后重测，计算浓度时应乘以稀释倍数



**注意：**本图仅供参考，应以同次试验标准品所绘标准曲线计算标本含量。

**灵敏度，特异性和重复性：**

1. 灵敏度：最小可测人IL-2达0.98pg/ml。
2. 特异性：不与IL-4,4Ra,2Ra1及4I1等反应。
3. 重复性：板内，板间变异系数均<9%。

**IL-2简介：**

白细胞介素2(IL-2)是T细胞和NK细胞产生的15.5kD糖蛋白，在机体的免疫应答中起重要作用。Morgan等人首先报道的名称是T细胞生长因子(T cell growth factor, TCGF)，1979年在第二届细胞因子研究会上定名为IL-2。IL-2的其它名称包括T细胞替代因子(T cell replacing factor, TRF)、T细胞促分裂因子(T cell mitogenic factor, TMF)淋巴细胞条件培养液(lymphocyte-conditioned medium, LCM)和杀伤辅助因子(killer helper factor, KHf)等。IL-2最重要的作用是诱导T淋巴细胞增殖(从G0期进入S期)和分化。人胸腺中的T细胞前体表达IL-2R并分泌低水平的βIL-2，这种自分泌作用可促进胸腺细胞增殖。IL-2参与调节T细胞受体基因的重排和表达。IL-2能诱导NK细胞增殖，增强NK细胞的活性，诱导LAK细胞和TIL，并刺激它们产生细胞因子。高剂量IL-2能引起单核巨噬细胞增殖和分化，并增强单核巨噬细胞杀肿瘤细胞的作用。IL-2也能刺激已活化的B细胞增殖，活化B细胞表达高亲和力IL-2受体，其中α链由B细胞促分裂原诱导表达，而β链由βIL-2或IL-4诱导表达。IL-2除了支持B细胞生长外，还能促进免疫球蛋白(IgM和IgG)分泌，诱导J链合成从而加速IgM的装配和分泌。IL-2还刺激少突神经胶质细胞产生髓碱性蛋白，对该种细胞的增殖则呈双向性调节。在体内，IL-2有抗肿瘤、抗微生物感染、引起移植排斥和自身免疫以及免疫调节等作用。可溶性IL-2R作为免疫抑制剂，对白血病、移植排斥和自身免疫病可能有治疗作用。

**参考文献：**

1. Proc Assoc Am Physicians. 1996 Sep;108(5):374-81.
2. J Immunol. 1996 Sep 1;157(5):1913-8.