

人转化生长因子 β 1(TGF- β 1)ELISA Kit

Catalog Number: bsk11021

本试剂盒用于定量检测人血清、血浆或细胞培养上清液等样本中转化生长因子 β 1(TGF- β 1)含量。**使用前请仔细阅读说明书并检查试剂组分**，如有任何疑问请与北京博奥森生物技术有限公司联系，公司将为您提供强有力的技术支持。

仅供研究，不用于临床诊断。

目录

检测原理.....	3
试剂盒组成.....	3
其它实验材料.....	3
注意事项.....	4
样本收集、处理及保存方法.....	4
试剂准备.....	5
操作步骤.....	5
结果判断.....	6
试剂盒性能.....	7
检测范围.....	7
灵敏度.....	7
常见问题分析及解决办法.....	8

检测原理:

本试剂盒采用 ELISA 双抗体夹心法原理。用纯化的转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)抗体包被微孔板,向已包被的板微孔中依次加入标准品及待测样本,待其与包被抗体充分结合后,再与生物素化的 TGF- $\beta 1$ 抗体结合,其后加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的链霉亲和素,生物素与链霉亲和素形成高强度的非共价结合,经过彻底洗涤后加入底物 TMB 显色。TMB 在 HRP 酶的催化作用下转化成蓝色,并在酸的作用下最终转化成黄色。颜色的深浅和样本中的 TGF- $\beta 1$ 含量呈正相关。用酶标仪在 450nm 波长下测定吸光值(OD 值),通过绘制标准曲线计算样本中 TGF- $\beta 1$ 浓度。

试剂盒组成:

试剂盒组成	规格(96T)	保存条件
抗体包被板条	8×12	2-8℃保存
标准品	2 支	2-8℃保存
S1 标准品/样本稀释液	16 ml×1 瓶	2-8℃保存
浓缩生物素化抗体(100×)	60 μ l×2 瓶	2-8℃保存
S2 生物素化抗体稀释液	16ml×1 瓶	2-8℃保存
浓缩酶结合物(100×)	60 μ l×2 瓶	2-8℃保存
S3 酶结合物稀释液	16ml×1 瓶	2-8℃保存
浓缩洗涤液(20×)	25ml×1 瓶	2-8℃保存
1N HCL	1.6ml×1 瓶	2-8℃保存
1N NaOH	1.6ml×1 瓶	2-8℃保存
显色底物(避光)	12ml×1 瓶	2-8℃保存
终止液	12ml×1 瓶	2-8℃保存
封板胶纸	4 张	
说明书	1 份	

其它实验材料(不提供,但可协助购买):

- 1.酶标仪(主波长 450nm, 参考波长 630nm)
- 2.高精度可调移液器(已校准)及吸头: 0.5-10,2-20,20-200,200-1000 μ l。
一次检测样本较多时,建议使用多通道移液器。
- 3.自动洗板机或洗瓶

4.37℃温箱

5.双蒸水或去离子水

6.坐标纸

7.量筒

注意事项:

1.试剂盒保存在 2-8℃，已复溶但未用完的标准品，建议丢弃。不可混合使用不同来源或不同批号的试剂盒组分，请在有效期内使用本产品。

2.浓缩洗涤液低温取出可能会伴有结晶析出，稀释时可在水浴中加热助溶，不影响使用。

3.各步加样均应使用移液器，并经过校准，以免产生误差。建议一次加样时间最好控制在 5 分钟内，如样本数量较多，推荐使用排枪加样。

4.请每次测定的同时做标准曲线，最好做复孔。如样本中待测物质含量高于试剂盒检测上限（样本 OD 值大于标准品孔第一孔的 OD 值），请先用样本稀释液稀释一定的倍数（n 倍）后再测定，计算时需乘以总稀释倍数。

5. 为避免交叉污染，在加入不同浓度的标准品、不同样本、不同试剂时谨记及时更换吸头，封板胶纸只限一次性使用。

6.浓缩酶结合物及显色底物请避光保存，显色底物在添加之前，应保持无色，请勿使用已变为蓝色的显色底物。

7.严格按照说明书的操作进行，试验结果判定必须以酶标仪读数为准。

样本收集、处理及保存方法:

1.血清：室温血液自然凝固 30 分钟，离心 20 分钟（2000-3000 转/分）。仔细收集上清，若保存过程中出现沉淀，应再次离心，避免反复冻融。

2.血浆：根据样本的要求选择 EDTA 或柠檬酸作为抗凝剂，离心 20 分钟左右（2000-3000 转/分）。仔细收集上清，若保存过程中出现沉淀，应再次离心。

3.细胞上清液：检测分泌性的成分时，用无菌管收集。离心 20 分钟左右（2000-3000 转/分）。仔细收集上清。

4.若样本无法立即检测，请将其按最小使用量分装，-20℃—-70℃保存，避免反复冻融。尽量避免使用溶血或高血脂样本。如果血清中含有大量颗粒，检测前先离心或过滤去除；室温下解冻，请勿于 37℃或更高的温度加热解冻。

5.不能检测含 NaN₃ 的样本，因 NaN₃ 抑制辣根过氧化物酶的活性。

6.请根据实际情况，将样本做适当倍数稀释（建议根据预试验结果确定稀释倍数）。

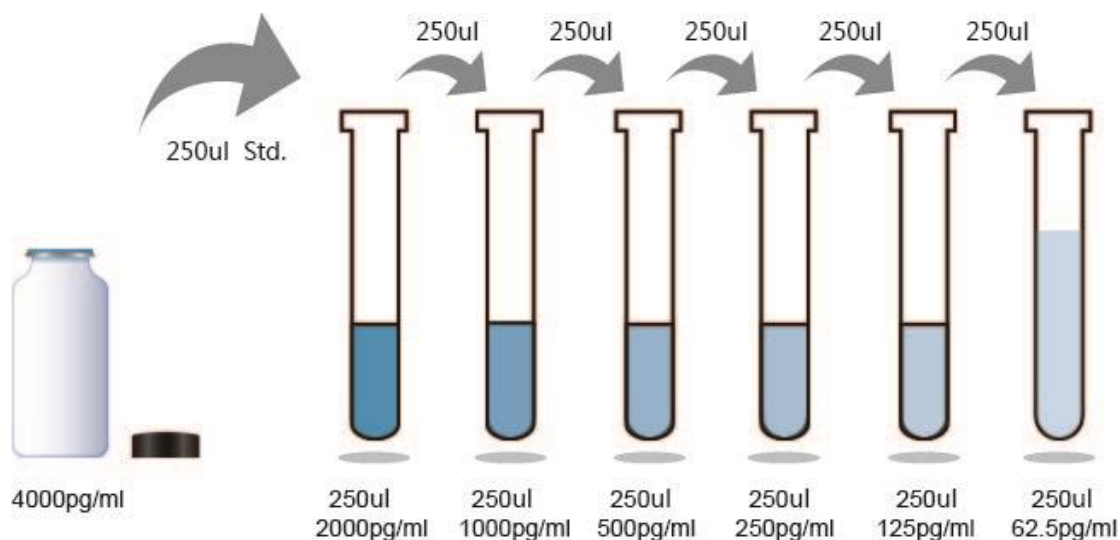
注：血清或血浆样本建议至少做 1:2 稀释。

试剂准备：

1.试剂回温：请在实验前 30min 内，将试剂盒和待测样本置于室温下回温。

2.洗涤液配制：根据浓缩洗液的浓缩倍数，用双蒸水或去离子水进行相应倍数稀释后备用。

3.标准品梯度稀释：取 0.5ml 标准品/样本稀释液（S1）至冻干标准品中，静置 15 分钟待其完全溶解后轻轻混匀(浓度为 4000pg/ml)，然后取 6 只聚丙烯试管，各加入 500μL 标准品/样本稀释液（S1），按照以下浓度进行 2 倍稀释：4000、2000、1000、500、250、125、62.5 pg/ml 进行稀释。4000pg/ml 为标准曲线最高点浓度，标准品/样本稀释液（S1）作为标准曲线的零点（0pg/ml）。复溶过的标准品原液（4000pg/ml）未用完的应废弃或根据需要按照一次用量分装，并将其贮存在-20~-80℃冰箱。



4.生物素化抗体工作液：根据试验所需用量，用生物素化抗体稀释液（S2）将浓缩生物素化抗体（100×）稀释成1倍应用工作液，请于30min内使用。

5. 酶结合物工作液：根据试验所需用量，用酶结合物稀释液（S3）将浓缩酶结合物（100×）稀释成1倍应用工作液，请于30min内使用。

6. 标本预处理：

血清或血浆标本激活方法：

1). 在225 μl标准品/标本稀释液(S1)中，加入5 μl血清或血浆标本。

2). 加10 μl 1 N HCl，盖紧，上下混匀。2—8℃放置60±2min。

3). 加10 μl 1 N NaOH，盖紧，上下混匀。（总体积250 μl即50倍稀释）

4). 即用，或置-20/-70℃可保存3天。计算结果时应乘以稀释倍数。

（注意：不同的标本TGF-β1的水平可能有较大差异，请根据实际情况灵活掌握稀释度）

细胞培养上清标本激活方法:

- 1). 在80 μ l标准品/标本稀释液(S1)中, 加入100 μ l标本。
- 2). 加10 μ l 1N HCl, 盖紧, 上下混匀。2—8℃放置60±2分钟。
- 3). 加10 μ l 1N NaOH, 盖紧, 上下混匀。(总体积200 μ l即2倍稀释)。
- 4). 即用, 或置-20/-70℃可保存3天。计算结果时应乘以稀释倍数。

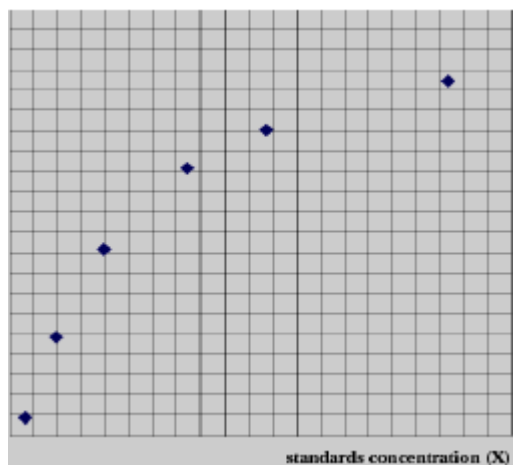
(注意: 不同的标本TGF- β 1的水平可能有较大差异, 请根据实际情况灵活掌握稀释度)

操作步骤:

- 1.加样: 根据试验所需用量, 取出相应抗体包被板条, 并增加1孔作为空白对照孔, 分别将已配制好的标准品、标准品零点(S1)及待测样本以100 μ l/孔加入实验孔底部
- 2.温育: 用封板胶纸封板后置37℃温育90min (空白对照孔除外)。
- 3.洗涤: 小心揭掉封板胶纸, 弃去液体, 甩干, 每孔加满洗涤液(350 μ l), 静置 30 秒后弃去, 如此重复 4 次, 最后于吸水纸上拍干。
- 4.加生物素化抗体: 每孔加入生物素化抗体应用工作液 100 μ l (空白对照孔除外)。
- 5.温育: 用封板胶纸封板后置37℃温育60 min (空白对照孔除外)。
- 6.洗涤: 同上述洗涤过程(步骤 3), 洗板 4 次。
- 7.加酶结合物: 每孔加入酶结合物应用工作液 100 μ l (空白对照孔除外)。
- 8.温育: 用封板胶纸封板后置37℃温育30min (空白对照孔除外)。
- 9.洗涤: 同上述洗涤过程(步骤 3), 洗板 4 次。
- 10.显色: 每孔加入 100 μ l 显色底物, 用封板胶纸封板后置 37℃显色 10-20min。
- 11.终止: 每孔加终止液 100 μ l (此时蓝色立转黄色)。
12. 测定: 用酶标仪 450nm 波长测定各孔的吸光度(OD 值), 测定应在加终止液后 5min 以内进行。

结果判定:

- 1.每个标准品和样本的 OD 值减去空白孔的 OD 值, 为最终数值, 如果做复孔,求其平均值。
2. 使用计算机软件以吸光度 OD 值为纵坐标(Y), 相应的 TGF- β 1 标准品浓度为横坐标(X), 生成相应的标准曲线, 样本的 TGF- β 1 含量可根据其 OD 值由标准曲线换算出相应的浓度。若样本 OD 值高于标准品曲线上限, 请做适当倍数稀释, 计算样本浓度时需乘以相应稀释倍数。



本图仅供参考，应以同次试验标准品所绘标准曲线为准

试剂盒性能:

批内与批间差应小于 10%

检测范围:

62.5 pg/ml -4000 pg/ml

灵敏度:

31.25pg/ml

常见问题分析及解决办法

问题	可能原因	解决办法
无颜色	不同试剂盒或不同批号的试剂混合	重新检查试剂的标签，确准所有组分都属于正使用的试剂盒中的。不能混用不同试剂盒或不同批号的试剂。
	漏加抗体、酶、显色剂	检查操作流程，注意不要漏加
	HRP 酶污染了叠氮钠	使用新配制的试剂，禁含叠氮钠
	试剂配制/使用有误	重做试验，严格按说明书操作，每次配制和使用前看清标签
显色弱	超过有效期的产品可能会产生很弱的信号	检查产品有效期
	缩短孵育时间能使实验信号变弱	检查孵育时间
	使用了被污染的试剂	检查试剂是否被污染
	仪器设定不正确，滤光片不匹配	仪器是否设定正确，滤光片的使用等
	洗涤操作不规范	洗涤不充分，使用手工洗板常出现
		洗瓶洗涤，每孔应完全充满洗涤缓冲液，倾出时应迅速
		若用洗板机，应校准并设定足够充满每孔的体积量。板内侧不应接触设备
		检查每孔是否有残留的洗液或每孔加样量的体积是否准确
高背景	实验中孵育温度和时间不适当	确定每一试验步骤的孵育温度和时间是否适当
	酶加量过多	加酶前验看移液器调节量是否准确
		检查稀释度，若必要进行效价测定
标曲佳但样本孔无信号	样本中靶标物含量低或样本中无靶标物	设置阳性对照，重复实验
	样本基质效应影响检测	重新稀释样本后复测
标曲佳但样本信号偏高	样本中待检物含量超过标准曲线范围	重新稀释样本后复测