

人肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体 (TRAIL)ELISA Kit

Catalog Number: BSKH60040

本试剂盒用于定量检测人血清、血浆、组织匀浆、细胞裂解液、细胞培养上清液和其他生物液体等样本中肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(TRAIL)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

检测原理:

本试剂盒采用 ELISA 双抗体夹心法原理。用纯化的肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体 (TRAIL)抗体包被微孔板, 向已包被的微孔板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 TRAIL 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 TRAIL 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 TRAIL 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	-20℃ 保存
标准品	2 瓶	-20℃ 保存
稀释液	45ml×1 瓶	-20℃ 保存
检测溶液 A	120 μl×1 支	-20℃ 保存
检测溶液 B	120 μl×1 支	-20℃ 保存
浓缩洗涤液 (30×)	20ml×1 瓶	2-8℃ 保存
显色底物 (避光)	9ml×1 瓶	2-8℃ 保存
终止液	6ml×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(波长 450nm)
- 2.高精度可调移液器 (已校准) 及吸头: 0.5-10,2-20,20-200,200-1000μl。
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 4°C & -20°C，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.显色底物请避光保存。

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 60-120 分钟，1000g 离心 20 分钟，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，1000g 离心 20 分钟左右，收集上清，若保存过程中出现沉淀，应再次离心。

3.细胞上清液或其它生物样本：检测分泌性的成分时，用无菌管收集，1000g 离心 20 分钟左右，收集上清。

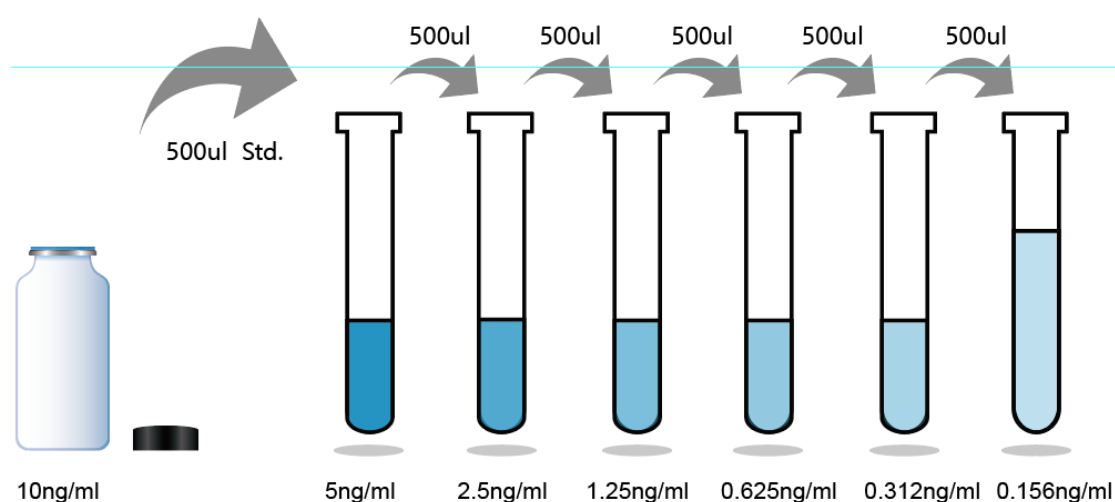
4.组织匀浆：1) 取适量组织块，于预冷 PBS 中清洗去除血液，称重后备用（组织块较大需先剪碎后再匀浆）；2) 可同时选用多种匀浆方法达到较好的破碎效果：首先将组织块移入玻璃匀浆器，加入 5-10mL 预冷 PBS 进行充分研磨，该过程需在冰上进行；得到的匀浆液可再利用超声破碎或反复冻融进一步处理；3) 将制备好的匀浆液于 5000×g 离心 5 分钟，取上清即可。

5.细胞裂解液：1) 贴壁细胞需要先用胰酶消化，离心收集细胞（悬浮细胞可直接离心收集）；2) 将收集到的细胞用冷 PBS 洗 3 次；3) 物理方法裂解细胞（可先超声破碎细胞，再反复冻融）；4) 将标本于 4°C 1500×g 离心 10 分钟，收集上清备用。

6.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。

试剂准备:

- 1.试剂回温:请在实验前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 1ml 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 10ng/ml),然后取 6 只聚丙烯试管,各加入 500 μl 稀释液,按照以下浓度进行 2 倍稀释: 5、2.5、1.25、0.625、0.312、0.156ng/ml 进行稀释。10ng/ml 为标准曲线最高点浓度,稀释液作为标准曲线的零点(0ng/ml)。复溶过的标准品原液(10ng/ml)未用完的应废弃。



- 4.检测溶液A及检测溶液B:在使用前请手甩几下或少时离心处理,以使管壁或瓶盖的液体沉积到管底。临用前分别以稀释液 1:100稀释(如: 10μL检测溶液A/990μL稀释液),充分混匀, 稀释前根据预先计算好的每次实验所需的总量配制(100μL/孔), 实际配制时应多配制 0.1-0.2mL。

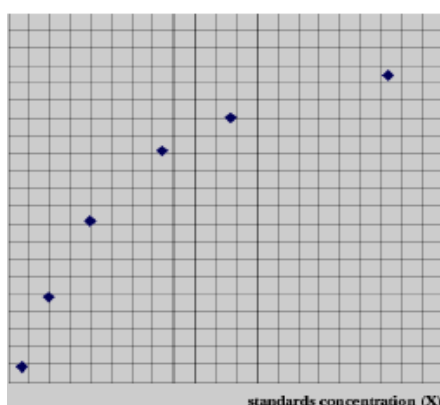
操作步骤:

- 1.加样:根据试验所需用量,取出相应抗体包被板条,分别将已配制好的标准品、标准品零点及待测样本以 100μl/孔加入实验孔底部。
- 2.温育:用封板胶纸封板后置 37℃温育 120min。
- 3.弃去液体,甩干,不用洗涤。
- 4.加检测溶液 A 工作液(临用前配制):每孔加入检测溶液 A 工作液 100μl。
- 5.温育:用封板胶纸封板后置 37℃温育 60 min。
- 6.洗涤:小心揭掉封板胶纸,弃去液体,甩干,每孔加满洗涤液(350μl),静置 1-2min 后弃去,如此重复 3 次,最后于吸水纸上拍干。

- 7.加检测溶液 B 工作液（临用前配制）：每孔加入检测溶液 B 工作液 100 μ l。
- 8.温育：用封板胶纸封板后置 37 $^{\circ}$ C温育 60 min。
- 9.洗涤：同上述洗涤过程（步骤 5），洗板 5 次。
- 10.显色：每孔加入 90 μ l 显色底物溶液，用封板胶纸封板后 置 37 $^{\circ}$ C显色 15-25min。
- 11.终止：每孔加终止液 50 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 TRAIL 标准品浓度为横坐标(X),生成相应的标准曲线，样本的 TRAIL 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：

0.156 ng/ml -10 ng/ml

灵敏度：

0.059 ng/ml