

人单核细胞趋化蛋白 1 (MCP-1) ELISA Kit

Catalog Number: BSKV0047

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单核细胞趋化蛋白 MCP-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

检测原理:

本试剂盒采用 ELISA 双抗体夹心法原理。用纯化的 MCP-1 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与辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的 MCP-1 抗体，使固相载体上形成抗体-抗原-酶标抗体复合物，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 MCP-1 含量呈正相关。用酶标仪 450 nm 波长下测定吸光值 (OD 值)，通过绘制标准曲线计算样本中 MCP-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°C保存
冻干标准品	2 支 (10000 pg/支)	2-8°C保存
标准品/样本稀释液	25 ml×1 瓶	2-8°C保存
酶标抗体浓缩液 (100×)	60 μl×2 瓶	2-8°C保存
酶标抗体稀释液	15 ml×1 瓶	2-8°C保存
浓缩洗涤液 (20×)	25 ml×1 瓶	2-8°C保存
显色底物 (避光)	12 ml×1 瓶	2-8°C保存
终止液	6 ml×1 瓶	2-8°C保存
封板胶纸	2 张	

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, 200-1000μl。
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°C温箱
5. 双蒸水或去离子水

6.坐标纸

7.量筒

注意事项:

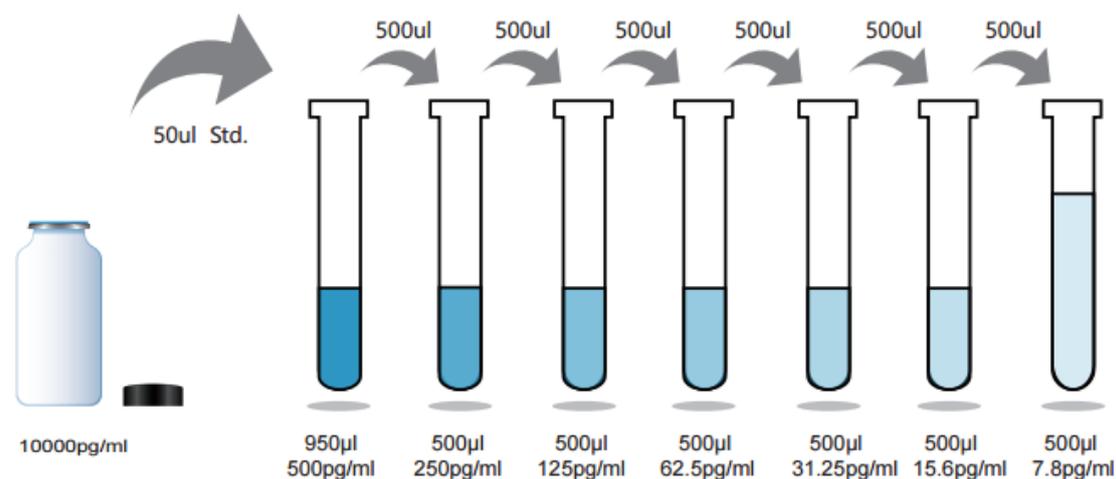
- 1.试剂盒保存在 2-8°C，已复溶但未用完的标准品，建议丢弃。不可混合使用不同来源或不同批号的试剂盒组分，请在有效期内使用本产品。
- 2.浓缩洗涤液低温取出可能会伴有结晶析出，稀释时可在水浴中加热助溶，不影响使用。
- 3.各步加样均应使用移液器，并经过校准，以免产生误差。建议一次加样时间最好控制在 5 分钟内，如样本数量较多，推荐使用排枪加样。
- 4.请每次测定的同时做标准曲线，最好做复孔。如样本中待测物质含量高于试剂盒检测上限（样本 OD 值大于标准品孔第一孔的 OD 值），请先用样本稀释液稀释一定的倍数（n 倍）后再测定，计算时需乘以总稀释倍数。
- 5.为避免交叉污染，在加入不同浓度的标准品、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.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°C—70°C 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°C 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）。

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: 取出试剂盒标准品, 取 1ml 标准品/样本稀释液至冻干标准品中, 静置 15 分钟待其完全溶解后轻轻混匀(浓度为 10000pg/ml), 然后将 10000pg/ml 进行 20 倍稀释, 950ul 标准品/样本稀释液中加入 50ul (10000pg/ml)的样本, 然后再取 6 只聚丙烯试管, 各加入 500 μ l 标准品/样本稀释液, 依次进行 2 倍稀释即: 500、250、125、62.5、31.25、15.6、7.8 pg/ml。500 pg/ml 标准品试管为标准曲线最高点浓度, 标准品/样本稀释液作为标准曲线的零点 (0 pg/ml), 复溶过的标准品原液 (10000g/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 $^{\circ}$ C 冰箱。



4. 酶标抗体工作液: 根据试验所需用量, 用酶标抗体稀释液将酶标抗体浓缩液进行 100 倍稀释, 例如 99 μ l 酶标抗体稀释液加 1 μ l 酶标抗体浓缩, 请于 30 min 内使用 (酶标抗体浓缩取量最小为 1 μ l, 不能低于 1 μ l)。

操作步骤:

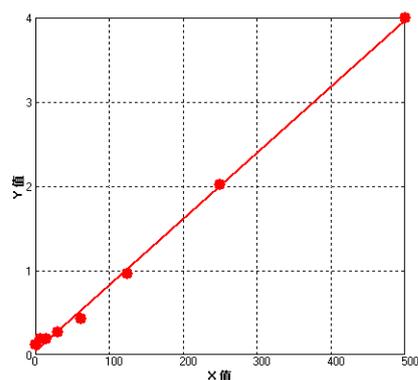
1. 加样: 根据试验所需用量, 取出相应抗体包被板条, 分别将已配制好的标准品、标准品零点 (标品/样本稀释液) 及待测样本以 100 μ l/孔加入实验孔底部, 尽量不触及孔壁, 充分混匀。
2. 温育: 用封板胶纸封板后置 37 $^{\circ}$ C 孵育 90 min。
3. 洗涤: 小心揭掉封板膜, 弃去液体, 甩干, 每孔加 300 μ l 洗涤液, 静置 30 秒后弃去, 如此重复 5 次, 拍干。
4. 加酶结合物: 在各实验孔加入酶标抗体工作液 (100 μ l/孔)。
5. 温育: 用封板胶纸封板后置 37 $^{\circ}$ C 孵育 60 min。

6. 洗涤：小心揭掉封板膜，弃去液体，甩干，每孔加 300 μ l 洗涤液，静置 30 秒后弃去，如此重复 5 次，拍干。
7. 显色：每孔加入 100 μ l 显色底物，用封板胶纸封板后 37 $^{\circ}$ C 显色 10-20 min。
8. 终止：每孔加终止液 50 μ l（此时蓝色立转黄色）。
9. 测定：用酶标仪 450 nm 波长测定各孔的吸光度（OD 值），测定应在加终止液后 5 min 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 MCP-1 标准品浓度为横坐标(X)，生成相应的标准曲线，样本的 MCP-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。

Concentration (pg/mL)	Optical Density (450 nm)
500	4
250	2.014
125	0.963
62.5	0.424
31.2	0.27
15.6	0.187
7.81	0.185
0	0.113



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：

7.8 pg/ml -500 pg/ml

灵敏度：

4 pg/ml