



### 小鼠干扰素- $\gamma$ 酶联免疫吸附检测试剂盒

#### (Mouse IFN- $\gamma$ ELISA Kit)

产品编号: BR33113

规格: 96T

特异性: 特异检测小鼠 IFN- $\gamma$

线性范围: 3.1pg/ml-200pg/ml

检测限: <3.1pg/ml

储存条件: 2-8 $^{\circ}$ C (频繁使用时) 或者-20 $^{\circ}$ C (长期不使用时)

保质期: 6 个月 (2-8 $^{\circ}$ C), 12 个月 (-20 $^{\circ}$ C)

用途: 用于定量分析小鼠血清、血浆或细胞培养上清中 IFN- $\gamma$  浓度

#### 产品简介

干扰素- $\gamma$  (Interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ) 是一种多功能免疫细胞因子, 在多种免疫细胞活化中发挥重要作用, 主要活化 NK 细胞、NKT 细胞、CD4 $^{+}$  T 淋巴细胞、CD8 $^{+}$  T 淋巴细胞和巨噬细胞等多种细胞产生。在生理条件下, IFN- $\gamma$  的合成受多种细胞因子、核分裂因子和抗原的刺激而增加。各种免疫调节相关通路的激动剂或抑制剂也可以对 IFN- $\gamma$  的表达和分泌发挥重要调节作用。

佰瑞达提供的 Mouse IFN- $\gamma$  ELISA Kit 是典型的双抗夹心法酶联免疫吸附测定试剂盒 (Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ELISA)。样品加入测定孔中, IFN- $\gamma$  被特异性吸附到预先包被的单克隆抗体上, 然后针对其它表位的生物素标记的检测抗体再特异性结合到 IFN- $\gamma$  上, 辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素再特异性结合到生物素上, 最后经 TMB 底物显色, 即可通过标准曲线和样品吸光度对 IFN- $\gamma$  浓度进行定量。

#### 试剂盒组成

Components	Size
Mouse IFN- $\gamma$ Standard	10ng
Mouse IFN- $\gamma$ Capture Antibody Coated Plate	96Wells
Mouse IFN- $\gamma$ Detection Antibody(100 $\times$ )	125 $\mu$ l
HRP-Streptavidin(100 $\times$ )	125 $\mu$ l
Sample Diluent Solution	30ml
Detection Antibody Diluent Solution	12ml
HRP-Streptavidin Diluent Solution	12ml
TMB Solution	12ml
Stop Solution	12ml
Wash Buffer(20 $\times$ )	25ml



### 需要而未提供的试剂和器材

1. 去离子水
2. 系列可调节移液器及吸头
3. 干净的试管或离心管
4. 酶标仪

### 样品的准备

1. 培养细胞上清：贴壁细胞直接取细胞培养基分析即可；悬浮细胞 300×g 离心除去沉淀，取上清分析。
2. 血浆：采用 EDTA、柠檬酸盐或肝素抗凝，抽血后 30 分钟内 1000×g 离心取上清。
3. 血清：用干净试管或离心管收集血液，室温凝固 1 小时，2000×g 离心取上清。
4. 标本立即分析或-20℃及以下温度保存。

### 试剂的准备

1. 小鼠 IFN- $\gamma$  标准品(Mouse IFN- $\gamma$  Standard)配制：在使用前 10 分钟配制，加入 1ml 样品稀释液 (Sample Diluent Solution) 到标准品管中，将 IFN- $\gamma$  标准品配制为 10ng/ml，然后吸取部分标准品依次将标准品稀释为 200pg/ml、100pg/ml、50pg/ml、25pg/ml、12.5pg/ml、6.2pg/ml、3.1pg/ml。剩余 10ng/ml 标准品请-20℃保存。
2. 洗涤液(Wash Buffer)的工作液配制：利用去离子水将洗涤液稀释 20 倍，室温储存。
3. 生物素标记的小鼠 IFN- $\gamma$  检测抗体 (Mouse IFN- $\gamma$  Detection Antibody) 工作液配制：在使用前 10 分钟配制，利用检测抗体稀释液 (Detection Antibody Diluent Solution) 将生物素标记的小鼠 IFN- $\gamma$  检测抗体稀释 100 倍。
4. 辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素 (HRP-Streptavidin) 工作液配制：在使用前 10 分钟配制，利用辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素稀释液(HRP-Streptavidin Diluent Solution) 将辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素稀释 100 倍。

### 测定方法

1. 取出酶标板 (Mouse IFN- $\gamma$  Capture Antibody Coated Plate)，设置空白调零孔、标准曲线孔和样品孔。
2. 在空白调零孔中加入样品稀释液，在标准曲线孔中加入系列浓度标准品，在样品孔中加入正确稀释后的样品，体积均为 100 $\mu$ l；37℃孵育 1 小时。
3. 各孔加入 300 $\mu$ l 洗涤液清洗酶标板，然后利用吸水纸吸干或甩干，重复 3 次。
4. 各孔加入 100 $\mu$ l 生物素标记检测抗体工作液，37℃孵育 1 小时。
5. 各孔加入 300 $\mu$ l 洗涤液清洗酶标板，然后利用吸水纸吸干或甩干，重复 3 次。



6. 各孔加入 100 $\mu$ l 辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素工作液，37 $^{\circ}$ C 孵育 30 分钟。
7. 各孔加入 300 $\mu$ l 洗涤液清洗酶标板，然后利用吸水纸吸干或甩干，重复 4 次。
8. 各孔加入 100 $\mu$ l TMB 反应液(TMB Solution)，37 $^{\circ}$ C 孵育 10-20 分钟。
9. 各孔加入 100 $\mu$ l 的终止液(Stop Solution)终止反应。
10. 酶标仪测定 450nm 波长的吸光度。

### 数据处理

利用标准品浓度为横坐标，OD 值为纵坐标制作标准曲线，并获得横纵坐标之间的函数关系式。然后利用各样品的 OD 值计算样品的 IFN- $\gamma$  浓度。

### 注意事项

1. 用户在初次使用试剂盒时，应将小体积试剂离心数分钟，以便试剂集中到管底。
2. 每次实验剩余的酶标板条，应压紧铝箔袋密封条密封保存，拆封后的酶标板可继续密封保存 1 个月。
3. 要严格避免操作过程中酶标板干燥，干燥会使酶标板上生物成份失活和下一步非特异反应强度加大。
4. 使用前 TMB 显色液为无色透明溶液，若发现颜色异常，请及时与厂家联系。
5. 为避免交叉污染，请勿重复使用移液器吸头。
6. 禁止混用不同批次试剂盒内的试剂和酶标板。
7. 测定未知 IFN- $\gamma$  浓度范围样品时，应先利用少量酶标板条和加入不同稀释倍数样品及 200pg/ml 标准品来评估样品 IFN- $\gamma$  浓度范围，然后再进行批量测定正确稀释后的样品。
8. 本试剂盒仅用于科学研究，不得用于诊断和医疗。