

人 (Human) 肿瘤坏死因子 α (TNF- α) ELISA 检测试剂盒

Catalog# UZ-ES00006

Product information

产品货号	UZ-ES00006
产品名称	人 (Human) 肿瘤坏死因子 α (TNF- α) ELISA 检测试剂盒
反应种属	人
检测方法	双抗体一步夹心法 ELISA
检测范围	5 - 80 pg/mL
灵敏度	< 1.0 pg/mL
样本类型	血清、血浆、细胞上清、组织匀浆等
贮藏条件	2-8°C, 避光防潮
有效期	6 个月
规格	96 孔 / 48 孔

1、检测原理

试剂盒采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验 (ELISA)。往预先包被肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 抗体的包被微孔中, 依次加入标本、标准品、HRP标记的检测抗体, 经过温育并彻底洗涤。用底物TMB显色, TMB在过氧化物酶的催化下转化成蓝色, 并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和样品中的肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 呈正相关。用酶标仪在450nm 波长下测定吸光度 (OD 值), 计算样品浓度。

2、样品收集、处理及保存方法

1. 血清: 使用不含热原和内毒素的试管, 操作过程中避免任何细胞刺激, 收集血液后, 3000转离心10分钟将血清和红细胞迅速小心地分离。
2. 血浆: EDTA、柠檬酸盐或肝素抗凝。3000转离心30分钟取上清。
3. 细胞上清液: 3000转离心10分钟去除颗粒和聚合物。
4. 组织匀浆: 将组织加入适量生理盐水捣碎。3000转离心10分钟取上清。
5. 保存: 如果样本收集后不及时检测, 请按一次用量分装, 冻存于-20°C, 避免反复冻融, 在室温下解冻并确保样品均匀地充分解冻。

3、自备物品

- 酶标仪 (450nm)
- 高精度加样器及枪头: 0.5-10uL、2-20uL、20-200uL、200-1000uL
- 37°C 恒温箱

4、操作注意事项

- 试剂盒保存在2-8°C, 使用前室温平衡20分钟。从冰箱取出的浓缩洗涤液会有结晶, 这属于正常现象, 水浴加热使结晶完全溶解后再使用。
- 实验中不用的板条应立即放回自封袋中, 密封 (低温干燥) 保存。
- 浓度为0的S0号标准品即可视为阴性对照或者空白; 按照说明书操作时样本已经稀释5倍, 最终结果乘以5才是样本实际浓度。
- 严格按照说明书中标明的时间、加液量及顺序进行温育操作。
- 所有液体组分使用前充分摇匀。

5、试剂盒组成

人（Human）肿瘤坏死因子 α （TNF- α ）ELISA 检测试剂盒

Catalog# UZ-ES00006 (cont.)

Product information

名称	96孔配置	48孔配置	备注
微孔酶标板	12孔×8条	12孔×4条	无
标准品	0.3mL*6管	0.3mL*6管	无
样本稀释液	6mL	3mL	无
检测抗体-HRP	10mL	5mL	无
20×洗涤缓冲液	25mL	15mL	按说明书进行稀释
底物A	6mL	3mL	无
底物B	6mL	3mL	无
终止液	6mL	3mL	无
封板膜	2张	2张	无
说明书	1份	1份	无
自封袋	1个	1个	无

注：标准品（S0-S5）浓度依次为：0，5，10，20，40，80 pg/mL

6、试剂的准备

20×洗涤缓冲液的稀释：蒸馏水按1：20稀释，即1份的20×洗涤缓冲液加19份的蒸馏水。

7、洗板方法

- 手工洗板：甩尽孔内液体，每孔加满洗涤液，静置1min后甩尽孔内液体，在吸水纸上拍干，如此洗板5次。
- 自动洗板机：每孔注入洗液350 μ L，浸泡1min，洗板5次。

8、操作步骤

1. 从室温平衡20min后的铝箔袋中取出所需板条，剩余板条用自封袋密封放回4℃。
设置标准品孔和样本孔，标准品孔各加不同浓度的标准品50 μ L；
样本孔先加待测样本10 μ L，再加样本稀释液40 μ L；空白孔不加。除空白孔外，标准品孔和样本孔中每孔加入辣根过氧化物酶（HRP）标记的检测抗体100 μ L，用封板膜封住反应孔，37℃水浴锅或恒温箱温育60min。弃去液体，吸水纸上拍干，每孔加满洗涤液，静置1min，甩去洗涤液，吸水纸上拍干，如此重复洗板5次（也可用洗板机洗板）。
每孔加入底物A、B各50 μ L，37℃避光孵育15min。
每孔加入终止液50 μ L，15min内，在450nm波长处测定各孔的OD值。

9、结果判断

绘制标准曲线：在Excel工作表中，以标准品浓度作横坐标，对应OD值作纵坐标，绘制出标准品线性回归曲线，按曲线方程计算各样本浓度值。

10、试剂盒性能

- 准确性：标准品线性回归与预期浓度相关系数R值，大于等于0.9900。
- 灵敏度：最低检测浓度小于1.0 pg/mL。
- 特异性：不与其它可溶性结构类似物交叉反应。
- 重复性：板内、板间变异系数均小于15%。

11、贮藏与有效期

人（Human）肿瘤坏死因子 α （TNF- α ）ELISA 检测试剂盒

Catalog# UZ-ES00006 (cont.)

Product information

贮藏 2-8°C，避光防潮保存。

有效期 6个月

12、免责声明

试剂盒仅供研究使用，不得用于临床实验或人体实验，否则所产生的一切后果，由实验者承担，本公司概不负责。
严格按照说明书操作，实验者违反说明书操作，后果由实验者承担。