

大鼠白介素 10 酶联免疫试剂盒

Rat IL-10 ELISA Kit

用于血清, 血浆, 细胞上清及其他生物体液中
大鼠白介素 10 的检测

货号: A1010A0310

批号: 20171109

96 tests

仅供科研使用, 勿用于药物、临床检测



联系地址: 上海市闵行区罗锦路 98 号 2 幢 5 楼,

邮编: 200237

联系电话: 86 21 51692391, 4008801880

web: www.biotnt.com

mail: lab@biotnt.com

目录

检测原理.....	2
试剂盒组份.....	2
未提供的试剂、仪器和耗材.....	3
注意事项.....	3
样本与试剂准备.....	4
样本.....	4
标准品配制.....	4
1× Biotinylated Antibody.....	4
1× Streptavidin HRP Conjugate.....	4
显色液配制.....	5
1× 洗涤液配制.....	5
操作步骤.....	5
结果计算与判断.....	5
试剂盒数据批内差 (Intra-Assay).....	7
试剂盒数据批间差 (Inter-Assay).....	7
试剂盒灵敏度 (Sensitivity).....	7
试剂盒数据回归性 (Recovery).....	8
试剂盒数据特异性 (Specificity).....	8

检测原理：

本试剂盒采用双抗夹心法。用抗 Rat IL-10 抗体包被于酶标板上，标准品和样本中的 Rat IL-10 与单抗结合，加入生物素化的抗 Rat IL-10，形成免疫复合物连接在板上，辣根过氧化物酶标记的 streptavidin 与生物素结合，加入底物工作液显蓝色，最后加终止液，在 450nm 处测 OD 值，Rat IL-10 浓度与 OD 值成正比，可通过绘制标准曲线求出标本中 Rat IL-10 的浓度。

试剂盒组份（2-8℃保存）

1. 酶标板 (coated wells), 96 test , 1 plate ;
2. 稀释液 I (Assay Diluent I), 15 mL , 1 vial ;
3. 800ng/mL 标准品 (standards), 50 μ L , 2 vial ;
4. 300 \times 生物素化二抗 (Biotinylated Antibody), 40 μ L , 1 vial ;
5. 稀释液 II (Assay Diluent II), 15 mL , 1 vial ;
6. 40 \times 亲和链霉素辣根过氧化物酶结合物 (Streptavidin HRP Conjugate), 500 μ L , 1 vial ;
7. 稀释液 III (Assay Diluent III), 15 mL , 1 vial ;
8. 20 \times 浓缩洗涤液 (Wash Buffer), 50 mL , 1 vial ;
9. 显色液 A (Color Reagent A), 6 mL , 1 vial ;
10. 显色液 B (Color Reagent B), 6 mL , 1 vial ;
11. 终止液 (Stop Solution), 12 mL , 1 vial ;

未提供的试剂、仪器和耗材：

1. 单道或多道 (8 道或 12 道) 移液器及移液器枪头 : 10-200 μ L 和 50-1000 μ L ;
2. 多道 (8 道或 12 道) 移液器试剂存放槽 ;
3. EP 管及试剂配置容器 ;
4. 圆柱形量筒 : 100mL , 200mL , 500mL 和 1L ;
5. 可在 450nm 处进行读数的酶标仪 ;
6. 洗瓶或自动洗板机 ;
7. 蒸馏水或去离子水 ;
8. 封板膜或板盖 ;
9. 乳胶手套 ;
10. 吸水纸 ;

注意事项：

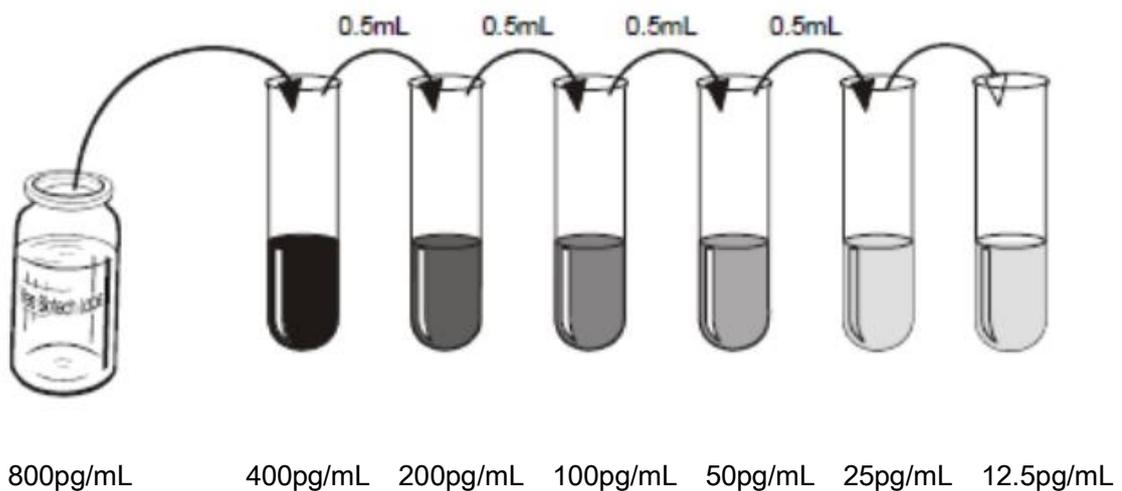
1. 严格按照规定的时间和温度进行温育以保证准确结果。所有试剂都必须在使用前达到室温 20-25 $^{\circ}$ C。使用后应立即冷藏保存试剂。
2. 洗板不正确可以导致不准确的结果。在加入底物前确保尽量吸干孔内液体。温育过程中不要让微孔干燥掉。
3. 消除板底残留的液体和手指印，否则影响 OD 值。
4. 底物显色液应呈无色或很浅的颜色，已经变蓝的底物液不能使用。
5. 避免试剂和标本的交叉污染以免造成错误结果。
6. 在储存和温育时避免强光直接照射。
7. 任何反应试剂不能接触漂白溶剂或漂白溶剂所散发出来的强烈气体。任何漂白成分都会

破坏试剂盒中反映试剂的生物活性。

8. 标准孔及待测样本均建议做复孔, 每次测定应同时做标准曲线, 请合理安排预实验。
9. 不能使用过期产品。

样本与试剂准备:

1. **样本:** 本试剂盒可检测血清, 血浆 (EDTA, 肝素抗凝), 细胞培养上清液, 组织匀浆, 样本储存要求 2-8°C 保存 48 小时, 更长时间需冷冻 (-20°C 或 -80°C) 保存, 避免反复冻融。如样本 rat IL-10 含量过高, 可用稀释液 I 进行稀释。
2. **标准品配制:** 用稀释液 I 按 1:1000 倍稀释 800ng/mL 标准品, 配成浓度为 800pg/mL 的标准品溶液 (标准曲线最高点); 再准备六支空 EP 管, 分别加入 500 μ L 稀释液 I, 吸取 800pg/mL 的标准品溶液 500 μ L 加入第一管中, 充分混匀, 从第一管中取 500 μ L 加到第二管中, 充分混匀, 如此反复对半稀释至浓度 12.5pg/mL 的标准品溶液; 另取一空白 EP 管加入足量的稀释液 I, 设为空白对照。



3. **1 \times Biotinylated Antibody:** 用稀释液 II 按 1:300 倍稀释 300 \times 生物素化二抗。
4. **1 \times Streptavidin-HRP Conjugate:** 用稀释液 III 按 1:40 倍稀释 40 \times 亲和链霉素辣根过氧

化物酶结合物。

5. **显色液配制**：A 液和 B 液做 1 : 1 配制，即配即用，可根据使用量临时配制（不稳定），不要配制过多的显色液。
6. **1×洗涤液配制**：用蒸馏水 1 : 20 倍稀释（示例：1mL 20×浓缩洗涤液加入 19mL 蒸馏水）；

操作步骤：

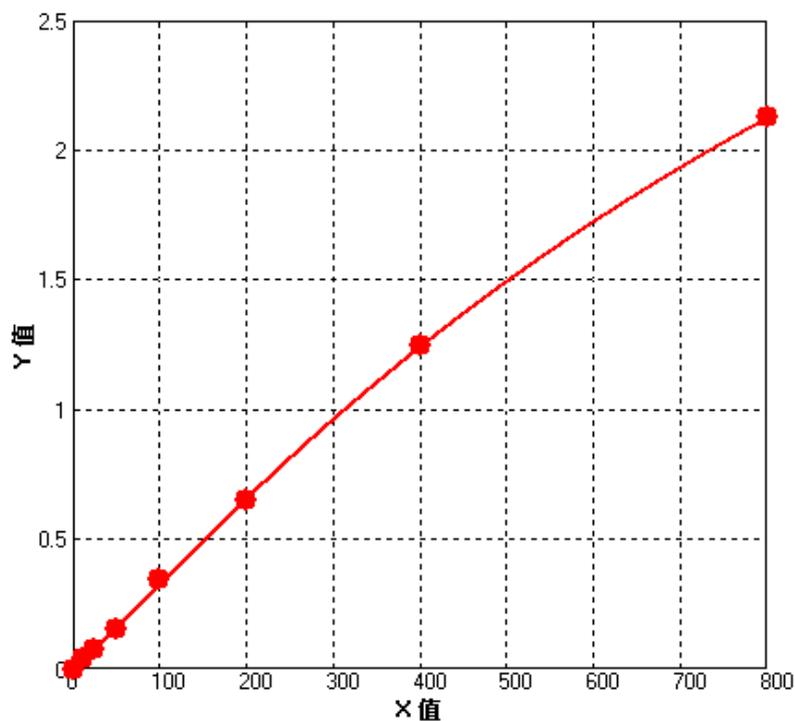
1. 加样：加入相对应标准品，待测样品各 100 μ L，封板，充分混匀，室温温育 120 分钟；
2. 洗板：用 1×洗涤液将反应板充分洗涤 3 次，在吸水纸上拍干；
3. 每孔加入已稀释 1×Biotinylated Antibody 100 μ L，封板，室温温育 60 分钟；
4. 洗板：同第二步；
5. 每孔加 1×Streptavidin- HRP 100 μ L，封板，室温温育 30 分钟；
6. 洗板：同第二步；
7. 每孔加入已配制的显色工作液 100 μ L，将反应板置暗处室温 5-15 分钟（可以目测实际显色情况，如显色过深，请及时终止）；
8. 每孔加入 100 μ L 终止液，混匀；
9. 设置酶标仪主波长 450nm 副波长 630nm 检测吸光度，终止后 10 分钟内读数。

结果计算与判断：

1. 所有 OD 值都应减除空白值后在计算；
2. 以标准品 800，400，200，100，50，25，12.5，0pg/mL 为横坐标，OD 值为纵坐标，画出标准曲线。

3. 根据样本 OD 值在该曲线图上查出相对应 Rat IL-10 含量, 如样本有稀释, 请再乘上稀释倍数。

Standard (pg/mL)	O.D. (450 nm)	Mean	Zero Standard Subtracted (Std.)-(S1)
800 pg/ml	2.183 , 2.232	2.2075	2.1250
400 pg/ml	1.316 , 1.343	1.3295	1.2470
200 pg/ml	0.735 , 0.730	0.7325	0.6500
100 pg/ml	0.417 , 0.439	0.4280	0.3455
50 pg/ml	0.226 , 0.240	0.2330	0.1505
25 pg/ml	0.155 , 0.156	0.1555	0.0730
12.5 pg/ml	0.121 , 0.124	0.1225	0.0400
0 pg/ml	0.081 , 0.084	0.0825	0.0000



Rat IL-10 标准曲线 (pg/mL)

试剂盒数据批内差 (Intra-Assay):

选取不同浓度的大鼠血浆样本各 3 例在同一次验证实验中加样 20 孔，来验证批内差，

检测结果如下：

Sample	1	2	3
N	20	20	20
Mean (pg/mL)	32	202	976
Standard Deviation	2.5	8.3	11.7
Coefficient of Variation (%)	7.6	4.3	3.2

试剂盒数据批间差 (Inter-Assay):

选取不同浓度的大鼠血浆样本各 3 例在 10 次不同的实验中进行检测，来验证批间差，

检测结果如下：

Sample	1	2	3
N	10	10	10
Mean (pg/mL)	35	219	948
Standard Deviation	1.9	8.6	12.5
Coefficient of Variation (%)	5.3	4.5	3.4

试剂盒灵敏度 (Sensitivity):

本试剂盒检测 rat IL-10 的最低浓度为 3.9pg/mL，验证实验选取两条标准品进行梯度稀释确认 3.9pg/mL 以上浓度的反应孔 OD 值呈正相关线性分布，IL-10 浓度在 3.9-12.5pg/mL 之间样本可以被检测到但会有较大偏差，低于 3.9pg/mL 无法被检出。

试剂盒数据回归性 (Recovery) :

选取血清、血浆、细胞上清等不同类型的大鼠样本按低浓度、中浓度、高浓度分组稀释

做回归性验证实验，将线性回归后的浓度值与理论浓度值相比较统计结果如下：

样本类型	Average Recovery (0-12.5pg/mL)	Average Recovery (12.5-400pg/mL)	Average Recovery (800pg/mL 以上)
血清	102.38%	96.71%	91.04%
血浆	101.54%	96.70%	89.93%
细胞上清	102.70%	95.98%	91.18%

试剂盒数据特异性 (Specificity) :

本 ELISA 试剂盒可以检测自然或重组 rat IL-10 蛋白。本试剂盒不与以下蛋白产生交叉反应：rat IL-1 α ，IL-2，IL-3，IL-4，IL-6，IL-7，IL-8，TNF- α ，TGF- β ，IFN- γ 。试剂盒与 human IL-10 有 2% 的交叉反应率。