



小鼠单抗 Ig 类/亚类鉴定用 ELISA 试剂盒说明书

货号：BF06001

规格：2×96 孔板

一、原理：

本试剂盒利用双抗体夹心法鉴定小鼠淋巴细胞杂交瘤培养上清中单克隆抗体或特异亲和纯化的单克隆抗体的类和亚类（可区分出 IgG1\IgG2a\IgG2b\IgG3\IgM\IgA）。采用小鼠抗体共有位点的二抗包被微孔板，与加入的培养上清中的小鼠抗体结合，再加入 HRP 标记的抗小鼠各类、亚类的抗体来分别反应，最后用 TMB 底物系统显色并用稀硫酸终止，再通过酶标仪检测吸光度来判断被测单克隆抗体的类或亚类。本试剂盒具有极高的分辨率，是您鉴定小鼠单克隆抗体类、亚类的可靠工具。

二、成分：

酶标板，含自封袋2个	2 × 96孔	标本稀释液	15ml
通用阳性对照	1.5ml	显色剂 A	15ml
通用阴性对照	1.5ml	显色剂 B	15ml
酶标二抗，6种	6×4ml	反应终止液	15ml
20×清洗液	50mL	加样图	2份
封板膜	4张	说明书	1份

三、使用范围：用于培养上清中小鼠单克隆抗体 Ig 类、亚类的鉴定以及相关内容的研究。

四、使用方法：

- 1、首先将试剂盒恢复室温（大约30分），然后用纯水把清洗液配成工作浓度（1份浓缩清洗液加19份纯水）。
- 2、取出酶标板。每个标本需要6孔，阳性对照6孔，阴性对照6孔。多余的用自封袋保存，记得放入干燥剂。
- 3、将标本检测孔每孔先加入标本稀释液各50μl。然后将50μl 细胞培养上清（或特异亲

和纯化的抗体)再加入酶标微孔板,每个标本加6孔;阳性对照和阴性对照孔不加标本稀释液也是各加6孔每孔100 μ l。贴上封板膜37 $^{\circ}$ C温育30分钟。

4、弃去板内液体,洗板5遍后在不掉纤维的吸水材料上拍干或机洗5遍。再在每个标本的6孔中分别加入6种酶标二抗各100 μ l,通用阳性、阴性对照的各孔也一样。在加样图上或酶标板上做好标记。贴上封板膜37 $^{\circ}$ C温育30分钟。

5、吸弃板内液体,洗板5遍后在不掉纤维的吸水材料上拍干或机洗5遍。每孔分别加入显色剂 A 和显色剂 B 各50 μ l,换一张新的封板膜贴板避光37 $^{\circ}$ C显色20分钟。

6、本试剂盒特异性好一般肉眼即可观察出结果,看显色蓝的那个孔所对应的酶标二抗就知道此标本的 Ig 类或亚类。更可将反应终止液(每孔50 μ l)终止反应后用酶标仪450nm 测定波长,630nm 参考波长双波长测定结果,参看高值孔所对应的酶标二抗就知道此标本的 Ig 类或亚类(阳性对照 OD 一般不小于0.8,阴性对照一般不高于0.15,阳性判定标准:样品 OD 大于阴性 OD+0.15,阴性 OD 低于0.05按0.05算)。

五、产品特点: 高灵敏度、高特异性、结果容易判定。当然您如果觉得很多试剂自己可以准备,那您可以登陆网站选择简装抗体鉴定产品 BF06004。

六、保存条件: 不开启2-8 $^{\circ}$ C避光保存效期一年。不正确存放或过于频繁开启使用有可能因此使效期缩短。

七、注意事项:

1、虽然本试剂盒过期后很久还有使用价值但还是请您在有效期内使用。

2、在检测腹水类单抗时要稀释到1/5万,虽然可以分辨但并不建议您这样做。此类样品成分十分复杂,有干扰结果的可能。在此种情况下您可以选择本公司的 BF06004小鼠单抗 Ig 类/亚类鉴定用酶标二抗套装。它会给您带来满意的结果,同时您也可以使用抗原包被板来解决此类问题。

3、手洗板子时一定要把孔加满,停留10秒然后弃尽,最后要拍干净。特别是在酶标二抗温育后洗板时一定要把酶吸出而不是甩出,要吸净。这个在手工洗板时对结果很重要。

- 4、一次没用完的板子要带干燥剂放自封袋封好，随盒存放。
- 5、拿放板子时不要剧烈抖动，以免孔间交叉污染出现错误结果。
- 6、本试剂一般不会出现两个阳性，但出现两个阳性的现象不论在进口或国产试剂中都是真实存在的，一般会一个 OD 很高,另一个很低但却还能判为阳性，实验分析表明这种情况下以 OD 高值孔为准，出现这种情况有多重原因：1、培养的细胞中有饲养细胞残留，2、抗体本身存在变异，3、样品为非特异亲和纯化的抗体或样品是腹水，4、上清出现少量污染，5、实验操作粗放，6、加错试剂。
- 7、通用阳性对照数据并不完全一样，仅作为试剂有效指示。