

Cat No.ER004

大鼠 IL-10 ELISA 试剂盒

尊敬的客户，感谢你选用本公司的产品。本产品适用于体外定量检测大鼠血清、血浆或细胞培养上清液中天然和重组的IL-10 浓度。检测其他特殊样本请咨询本公司技术支持。**仅供科研使用。**

使用前请仔细阅读说明书并检查试剂盒组分。 如有疑问，请联系依科赛生物制品有限公司。

您将得到我们的全方位服务。

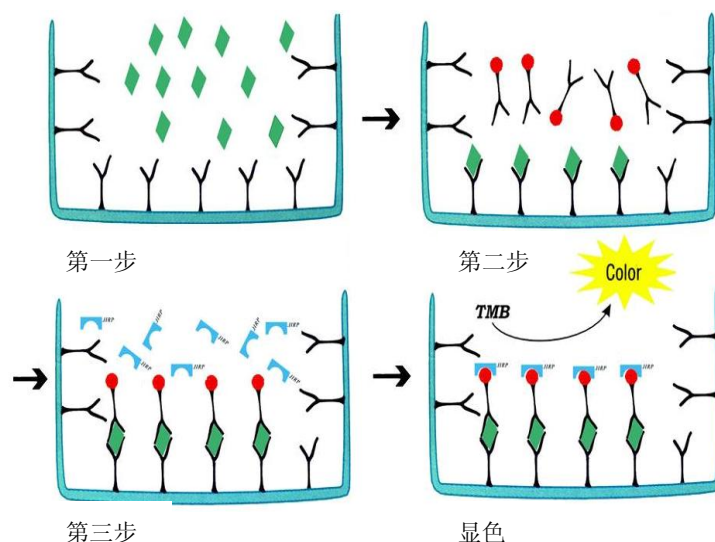
简介:

白细胞介素10 (IL-10)，也称细胞合成抑制因子 (CSIF)，是一种具有强大免疫调节作用的多效因子，它具有细胞类型多样性。在激活的B细胞中，IL-10可以诱导IgG形成血细胞和分泌物，或者在TGF- β 1和(或) IL-4存在的条件下形成IgA的分泌物。在巨噬细胞中，IL-10被认为有下调IL-1、TNF- α 和IL-6作用。在树突细胞中IL-10已经证实其利用下调刺激物和协同刺激物分子的表达来干扰抗原提呈细胞 (APC)。IL-10也已经被发现抑制树突细胞从单核细胞中区别出来并且促进单核细胞成为细胞毒素CD16⁺巨噬细胞。大量的上皮细胞和中胚层细胞 (包括NK细胞、细胞毒素 (CD8⁺) 的T细胞分泌的Th2细胞因子、CD4⁺CD45RA⁻ (存储) Th1和Th2细胞、巨噬细胞、单核细胞、CD5⁺和CD5 B细胞、树突细胞 (Peyer' s Patch-derived)、肝星状细胞、角化细胞、黑素瘤细胞和支气管癌症细胞) 经证实可以产生IL-10。大鼠IL-10cDNA为编码178个氨基酸残基的蛋白质，包含一个18个氨基酸的信号肽和一个160个氨基酸的成熟蛋白。成熟的大鼠IL-10和小鼠IL-10有85%序列同源性，和人的IL-10同源性为74%。

检测原理:

本实验采用双抗体夹心ELISA法。抗大鼠IL-10单抗包被于酶标板上，标本和标准品中的IL-10会与单抗结合形成免疫复合物，游离的成分被洗去；加入生物素化的抗大鼠IL-10抗体，生物素化抗大鼠IL-10抗体与酶标板结合的标准品或样本中的大鼠IL-10结合而形成免疫复合物，游离的成分被洗去；加入辣根过氧化物酶标记的亲合素，亲合素与生物素特异性结合，游离的成分被洗去。加入显色底物（显色剂），若反应孔中有IL-10，辣根过氧化物酶会使无色的显色剂变蓝，加终止液变黄。在450nm处测OD值，IL-10浓度与OD₄₅₀值之间呈正相关，可通过绘制标准曲线求出标本中IL-10浓度。

检测原理示意图:





试剂盒组成:

名称	96 Tests	48 Tests	保存条件
1. 抗体包被板条	8×12	8×6	4℃
2. 标准品	2 支(冻干)	1 支(冻干)	4℃
3. 浓缩生物素化抗体	2 支	1 支	4℃
4. 浓缩酶结合物	2 支	1 支	4℃(避光)
5. 试剂稀释液 (25ml/瓶)	2 瓶	1 瓶	4℃
6. 浓缩洗涤液 20× (30ml/瓶)	1 瓶	1 瓶	4℃
7. 显色剂	1 瓶 (12ml)	1 瓶 (6ml)	4℃(避光)
8. 终止液	1 瓶	1 瓶	4℃
9. 封板胶纸	3 张	2 张	
10. 说明书	1 份	1 份	

试验所需自备试验器材:

1. 酶标仪(450nm检测波长滤光片, 570nm或630nm校正波长滤光片)
2. 高精度加液器及一次性吸头: 0.5-10ul, 2-20ul,20-200ul,200-1000ul
3. 37℃恒温箱, 双蒸水或去离子水, 坐标纸。

标本收集:

1. 收集血液的试管应为一次性的无热原, 无内毒素试管。
2. 血浆抗凝剂推荐使用EDTA。避免使用溶血, 高血脂标本。
3. 标本应清澈透明, 悬浮物应离心去除。
4. 标本收集后若不及时检测, 需按一次使用量分装, 冻存于-20℃, -70℃电冰箱内, 避免反复冻融。
5. 可根据标本的实际情况, 做适当倍数稀释(建议做预实验, 以确定稀释倍数)。

注: 血清或血浆样本冻存后聚合的蛋白会遮盖抗原的表位, 建议用试剂稀释液将血清或血浆样本做1:2稀释后检测。计算样本含量时应乘以稀释倍数。

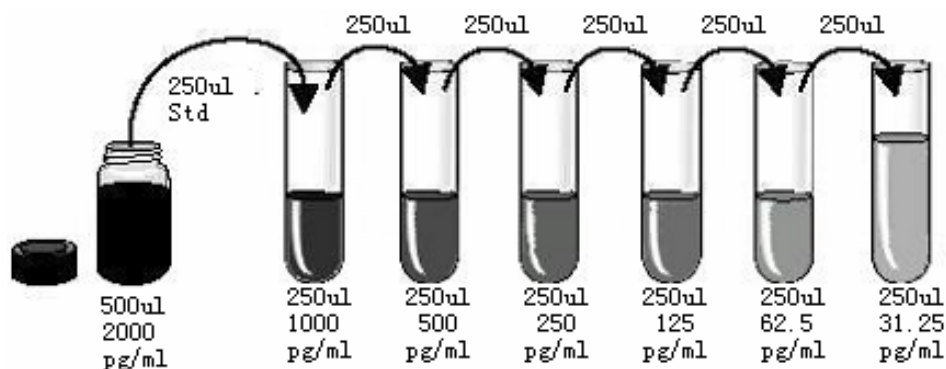
注意事项:

1. 试剂盒使用前请保存在2-8℃。除复溶后的标准品, 其他成分不可冻结。
2. 浓缩生物素化抗体, 浓缩酶结合物体积小, 运输中颠簸和可能的倒置, 会使液体沾到管壁或瓶盖。因此使用前请用甩几下或1000rpm离心1分钟, 以使附着管壁或瓶盖的液体沉积到管底。
3. 从冰箱中取出的浓缩洗涤液可能有结晶,属于正常现象, 微加热至40℃使结晶完全溶解后再配制洗涤液。
4. 若需要分次使用标准品, 在标准品复溶后应按每一次用量分装, 将其放在-20或-70℃贮存。避免反复冻融。
5. 不同批号的试剂盒组份不能混用(洗涤液和反应终止液除外)。
6. 充分轻微混匀对反应结果尤为重要, 最好使用微量振荡器(使用最低频率), 如无微量振荡器, 可在反应前手工轻轻晃动酶标板, 使加入孔中的反应液混匀。
7. 酶免试验中标准品和样本检测时建议作复孔。

检测前准备工作:

1. 请提前20分钟从冰箱中取出试剂盒，以平衡至室温。
2. 将浓缩洗涤液用双蒸水稀释(1:20)。未用完的放回4℃。
3. 标准品: 加入试剂稀释液**0.5ml**至冻干标准品中，静置**15分钟**，待其充分溶解后，轻轻混匀(浓度为**2000 pg/ml**)。然后根据需要进行稀释。(建议标准曲线使用以下浓度: 2000、1000、500、250、125、62.5、0 pg/ml)。

标准品稀释方法图例:



注: 复溶标准品原液(2000 pg/ml)若未用完请分装后放入-20℃以下冰箱内保存, 保存两个月。已稀释的标准品请废弃。

4. 生物素化抗体工作液: 按当次试验所需用量, 用试剂稀释液稀释浓缩生物素化抗体(1:100)配置成生物素化抗体工作液。使用前**30分钟**准备。仅供当日使用。
5. 酶结合物工作液: 按当次试验所需要用量, 用试剂稀释液稀释浓缩酶结合物(1:100)配置成酶结合物工作液。使用前**30分钟**准备。仅供当日使用。

洗涤方法:

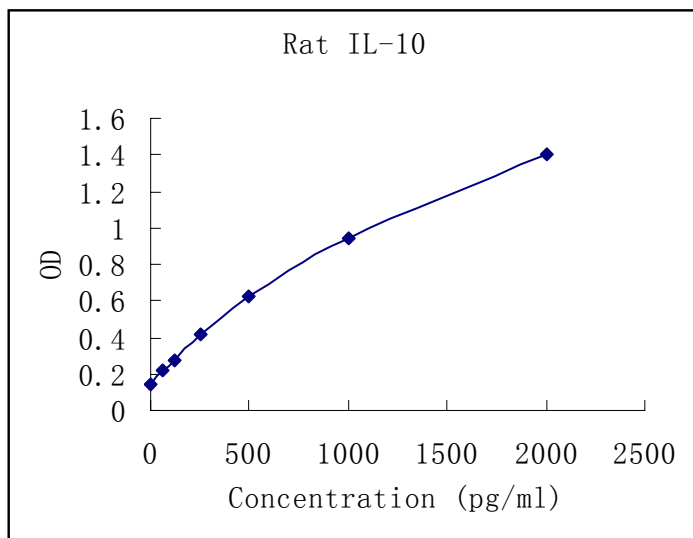
1. 自动洗板机: 要求注入的洗涤液为**350ul**, 注入与吸出间隔**20—30秒**。洗板**4次**。
2. 手工洗板: 每孔加洗涤液**350ul**, 静置**30秒**后甩尽孔内液体, 在厚迭吸水纸上拍干。洗板**5次**。

操作步骤:

1. 从已平衡至室温的密封袋中取出试验所需板条, 未用的板条和干燥剂请放回铝箔袋内封存于4℃。
2. 预留空白孔(若使用双波长读板, 空白孔可以不设)。
3. 分别将标本或不同浓度标准品(0pg/ml孔加试剂稀释液)加入相应孔中(100ul/孔), 用封板胶纸封住反应孔, 37℃孵箱孵育**90分钟**。
4. 提前**30分钟**制备生物素化抗体工作液。
5. 洗板**5次**。
6. 除空白孔外, 加入生物素化抗体工作液(100ul/孔)。用封板胶纸封住反应孔, 37℃孵箱孵育**60分钟**。
7. 提前**30分钟**制备酶结合物工作液。室温避光放置。
8. 洗板**5次**。
9. 除空白孔外, 加入酶结合物工作液(100ul/孔)。用封板胶纸封住反应孔, 37℃孵箱, 避光孵育**30分钟**。
10. 洗板**5次**。
11. 加入显色底物(包括空白孔)100ul/孔, 37℃孵箱, 避光孵育**15分钟**。
12. 加入终止液(包括空白孔)100ul/孔, 混匀后即刻测量OD₄₅₀值(10分钟内)。

结果判断:

1. 每个标准品和标本的OD值应减去零孔的OD值。（若不减零孔值，标准曲线的零孔应相交于Y轴）
2. 手工绘制标准曲线。以标准品浓度作横坐标，OD值作纵坐标，以平滑线连接各标准品的坐标点。通过标本的OD值可在标准曲线上查出其浓度。
3. 若标本OD值高于标准曲线上限，应适当稀释后重测，计算浓度时应乘以稀释倍数。



注意：本图仅供参考，应以同次试验标准品所绘标准曲线计算标本含量。

灵敏度，特异性和重复性:

1. 灵敏度：最小可测大鼠IL-10达15pg/ml。
2. 特异性：不与IL-1,2,3,4,5,6,8,12,IFN,TNF,VEGF,TGF及ICAM等反应。
3. 重复性：板内、板间变异系数均<10%。

ZCZABZZI