

## 人干扰素诱导蛋白 10 (IP-10;CXCL10) 酶联免疫吸附测定试剂盒使用说明书

### Human IP-10;CXCL10 ELISA Kit

产品货号: JPS-30103

产品规格: 96T/48T

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签), 以便我们更高效地为您服务。

Email: [jeppsbio@yeah.net](mailto:jeppsbio@yeah.net) 主页: <http://www.jpsbio.com>

中国 | 上海杰普斯生物科技有限公司

地址: 上海市闵行区中春路 988 号 11 幢 2 楼

- 该试剂盒用于体外定量检测人血清、血浆或其他相关生物液体中 P-10;CXCL10 的浓度。

### 实验原理：

试剂盒采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验（ELISA）。往预先包被人干扰素诱导蛋白 10（IP-10;CXCL10）捕获抗体的包被微孔中，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人干扰素诱导蛋白 10（IP-10;CXCL10）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。

### 试剂盒组成：

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

**试剂盒参数：**

性能	
灵敏度	1.0 pg/mL
检测范围	5 pg/mL - 160 pg/mL
重复性	板内变异系数小于 10%，板间变异系数小于 15%。
特异性	可检测样本中人的 P-10;CXCL10，且与其类似物无明显交叉反应

**需自备的设备及试剂：**

1. 450±10nm 滤光片酶标仪
2. 高精度加样器及枪头：0.5-10uL、2-20uL、20-200uL、200-1000uL.
3. Eppendorf 移液器.
4. 蒸馏水或去离子水.
5. 脱脂棉吸水纸.
6. 37℃恒温箱.
8. 准备若干个标准品稀释管.

### 样本处理及要求：

1. **血清：**将收集于血清分离管的全血标本在室温放置 2 小时或 4℃ 过夜，然后 1000×g 离心 20 分钟，取上清即可，或将上清置于-20℃或-80℃保存，但应避免反复冻融。
2. **血浆：**用 EDTA 或肝素作为抗凝剂采集标本，并将标本在采集后的 30 分钟内于 2-8℃ 1000×g 离心 15 分钟，取上清即可检测，或将上清置于-20℃或-80℃保存，但应避免反复冻融。
3. **组织匀浆：**用预冷的 PBS (0.01M, pH=7.4) 冲洗组织，去除残留血液（匀浆中裂解的红细胞会影响测量结果），称重后将组织剪碎。将剪碎的组织与对应体积的 PBS（一般按 1:9 的重量体积比，比如 1g 的组织样品对应 9mL 的 PBS，具体体积可根据实验需要适当调整，并做好记录。推荐在 PBS 中加入蛋白酶抑制剂）加入玻璃匀浆器中，于冰上充分研磨。为了进一步裂解组织细胞，可以对匀浆液进行超声破碎，或反复冻融。最后将匀浆液于 5000×g 离心 5~10 分钟，取上清检测。
4. **细胞培养物上清：**请 1000×g 离心 20 分钟，取上清即可检测，或将上清置于-20℃或-80℃保存，但应避免反复冻融。
5. 其它生物标本：1000×g 离心 20 分钟，取上清即可检测。
6. **样品外观：**样品应清澈透明，悬浮物应离心去除。
7. **样品保存：**样品收集后若在 1 周内进行检测的可保存于 4℃，若不能及时检测，请按一次使用量分装，冻存于-20℃（1 个月内检测），或-80℃（6 个月内检测），避免反复冻融，标本溶血会影响最后检测结果，因此溶血标本不宜进行此项检测。

### 检测前准备工作：

试剂盒从冷藏环境中取出应在室温平衡后方可使用。

20×洗涤缓冲液的稀释：蒸馏水按 1：20 稀释，即 1 份 20×洗涤缓冲液加 19 份蒸馏水

### 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℃。
2. 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 μL；
3. 样本孔中加入待测样本 50 μL；空白孔不加。
4. 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 μL，用封板膜封住反应孔，37℃ 水浴锅或恒温箱温育 60min。
5. 弃去液体，吸水纸上拍干，每孔加满洗涤液（350 μL），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）。
6. 每孔加入底物 A、B 各 50 μL，37℃ 避光孵育 15min。
7. 每孔加入终止液 50 μL，15min 内，在 450nm 波长处测定各孔的 OD 值。

**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℃。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. 平衡至室温后再打开密封袋以防水滴凝聚在冷板条上。
8. 任何反应试剂不能接触漂白溶剂或漂白溶剂所散发的强烈气体。任何漂白成分都会破坏试剂盒中反应试剂的生物活性。
9. 不能使用过期产品。
10. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。