

## 小鼠单抗分型试剂盒（ELISA 捕获法）

产品编号：**8305C**

酶标板分别包被抗小鼠 IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3、IgM、IgA，加入适当稀释度的细胞培养上清或纯化抗体孵育，然后洗去未结合的部分，再加 HRP 标记的抗小鼠 Ig 抗体，洗去未结合的部分后，加 ABTS 显色液，根据显色深浅判断检测结果。

小鼠单克隆抗体分型试剂用于定性检测小鼠单克隆抗体类型。一般对检测结果可以直接解释，但由于某些样品的特性，需要谨慎解释实验结果。

本试剂盒可用于检测培养上清（上清或浓缩），或纯化抗体。

本试剂盒不适合检测腹水样品，原因是小鼠宿主免疫球蛋白可能带来干扰。

### 规格

96T，可检测 12 个样品

### 运输、储存和有效期

冷藏运输，2-8℃ 储存，避光，在有效期内使用。正常储存条件下自生产之日起有效期 1 年。

### 试剂盒组成

1. 山羊抗小鼠免疫球蛋白分类抗体包被板，96 孔，8 孔 x 12 条，每条用于检测 1 个样品。

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A(mIgG1)	紫	紫	紫	紫	紫	紫	紫	紫	紫	紫	紫	紫
B(mIgG2a)	绿	绿	绿	绿	绿	绿	绿	绿	绿	绿	绿	绿
C(mIgG2b)	深紫											
D(mIgG3)	蓝	蓝	蓝	蓝	蓝	蓝	蓝	蓝	蓝	蓝	蓝	蓝
E(mIgM)	黄	黄	黄	黄	黄	黄	黄	黄	黄	黄	黄	黄
F(mIgA)	深紫											
G(Control-)	黄	黄	黄	黄	黄	黄	黄	黄	黄	黄	黄	黄
H(Control+)	红	红	红	红	红	红	红	红	红	红	红	红

图：1~12 列为 1~12 号样品，A~H 行为不同亚类或阴阳性对照

2. PBS 50ml
3. 羊抗鼠-HRP(11ml)
4. 20X 洗涤液(25ml)
5. ABTS 显色液(11ml)
6. ABTS 终止液(11ml)

### 自备试剂和设备

1. 酶标仪，可以检测 405 nm/450 吸光度，也可肉眼观察
2. 能够吸取 0.5~10 μl，10~200 μl，100~1000 μl 的移液器
3. 吸取 1~25ml 的移液器或/和移液管
4. 1000ml 量筒
5. 吸水纸
6. 蒸馏水或去离子水
7. 配制稀释样品的试管。

### 实验准备

1. 将试剂从冰箱取出，平衡至室温 18~25 °C，不能从冰箱取出后立即打开酶标板，否则由

地址：北京市昌平区阳坊镇极东未来产业园新业一楼三层 3096 号



于吸潮，降低酶标板的性能。

2. 样品的稀释：培养上清直接使用，浓缩培养上清参考浓缩倍数用样品稀释液稀释，纯化抗体稀释到 2 μg/ml，每份样品稀释后至少需要 1.0ml（复孔检测需要 2.0ml）
3. 1X 洗涤液的配制：20X 浓缩洗涤液（25ml）加去离子水稀释至 500ml 混匀，未用完的部分冷藏储存。冷藏的 20X 浓缩洗涤液可能有结晶，平衡至室温后结晶消失，摇匀取部分稀释或一次性稀释完毕。

## 操作步骤

1. 检查所有时间和样品是否已经平衡至室温 18~25 °C，20X 浓缩洗涤液，ABTS 终止液 (11ml)刚从冷藏取出时可能有结晶，确保其充分溶解并混匀。
2. 根据需要，取出相应条数的板条，1 个样品需要 1 条（单孔）或 2 条（复孔），不用的板条放回铝箔袋，密封好以便下次使用。
3. 在板条上标记好样品号，稀释好的样品 100ul 加入到相应板条中，用封板膜封板，室温孵育 1 小时
4. 甩去孔中的液体，在纸巾上拍干
5. 用排枪加入洗涤液（可用酶标洗板机），每孔 300 μl，静置 1 分钟，甩干，在纸巾上拍干，此步骤重复 3 次，将洗涤液甩出，在纸巾上拍干。
6. 在每孔中加入 HRP 标记的羊抗鼠 IgG，每孔 100 μl，用封板胶封板，室温孵育 30 分钟。
7. 重复步骤 4~5。
8. 在每孔中加入 ABTS 显色液 100ul，轻轻振荡，避光室温孵育 5~15 分钟（根据显色情况，阴性不显色或很淡颜色，阳性显深绿色，适当延长或缩短时间）。

若仅需要肉眼观察，此步可以结束。如需要测定吸光度值，可继续步骤 9。

9. 在每孔中加入终止液 100ul，立即在酶标仪上读取  $A_{405nm}$ ，参考波长 450nm。

可能出现的问题和解决方案

问题	可能原因	解决办法
G 不显色	待测抗体浓度过低	提高样品的抗体浓度
H 强显色	杂交瘤未分泌抗体	检查抗体分泌
A~F 均不显色		
G 不显色	样品中不是单克隆	重新克隆
H 强显色	样品使用腹水，腹水中含有宿主来源的抗体	使用纯化样品，或用间接法检测
A~F 多孔强显色	样品中的过高浓度抗体可能与分型特异性抗体或二抗有交叉反应	进一步稀释样品
	IgG1 样品也被 IgG2a 测出阳性	忽略 IgG2a 信号，只考虑 IgG1 信号
	样品被 IgG1 特异性抗体标记，也被另外一种分型抗体标记（特别是腹水）	忽略 IgG1 信号，因为属于宿主来源的抗体