

# 大鼠胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)酶联免疫吸附试剂盒

ELISA Kit for Thymic Stromal Lymphopoietin (TSLP)

## 【产品货号】

货号: SB-EC6149

规格: 96 T

## 【储存条件】

未拆封可整盒保存于-20℃, 4℃仅能保存一个月; 拆封需按照试剂瓶标签所示的温度保存, 1个月内使用完毕, 未使用酶标条用包含干燥剂的铝箔袋装好, 并拉紧密封铝箔袋, 置于-20℃保存。冰袋运输。

## 【产品组成】

试剂名称	数量	试剂名称	数量
96 孔板 (预包被)	1	96 孔板覆膜	4
标准品	2	标准品稀释液	1×20mL
检测溶液 A	1×120μL	检测溶液 A 稀释液	1×12mL
检测溶液 B	1×120μL	检测溶液 B 稀释液	1×12mL
TMB 底物	1×9mL	终止液	1×6mL
洗涤液 (30×)	1×20mL	使用说明书	1

## 【自备设备及试剂】

- 1、450±10 nm滤光片的酶标仪 (建议仪器使用前提前预热)
- 2、单道或多道微量移液器及吸头
- 3、稀释样品的EP管
- 4、蒸馏水或去离子水
- 5、吸水纸
- 6、盛放洗液的容器
- 7、0.01 mol/L (或1×)磷酸缓冲盐(PBS), pH=7.0-7.2

## 【产品详情】

适用物种: Rattus norvegicus (Rat)

应用及检测范围: Enzyme-linked immunosorbent assay for Antigen Detection. 15.6-1000pg/mL

灵敏度: 5.7pg/mL

样本类型: Serum, plasma, tissue homogenates and other biological fluids

检测方法及时间: Double-antibody Sandwich 3h

最新版本以官网为准

研究领域: Immune molecule;

全称: Thymic Stromal Lymphopoietin

别名:

Uniprot ID: XP\_002725389.1

### 【标本的采集与保存】

本试剂盒所检测的样本，应以本说明书首页产品详情中描述的样本类型为准，以下种类仅为推荐的样本处理流程。

- 1、 血清 将收集于血清分离管中的全血标本在室温放置2小时或4℃过夜，然后1,000×g离心20分钟，取上清即可，将上清置于-20℃或-80℃保存，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℃ 1,000×g离心15分钟，取上清即可检测，或将上清置于-20℃或-80℃保存，避免反复冻融。
- 3、 组织匀浆：不同类型的组织制备匀浆的方法会有所不同
  - 1) 取适量组织块，在预冷PBS (0.01mol/L, pH=7.0-7.2) 中清洗去除血液，匀浆前先称重。
  - 2) 将组织切成小块，均匀的放入放置在冰上的装有新鲜裂解缓冲液(应依据目标蛋白的亚细胞定位选择不同类型的缓冲液)的玻璃均质器中（微小的组织也要如此）。（质量体积比=1:20-1:50，例如：1mL裂解缓冲液中加入20-50 mg组织样本。）
  - 3) 将得到的悬浊液经过超声处理至澄清。
  - 4) 将制备好的匀浆液10,000×g离心5分钟，弃沉淀，上清即可用于检测或置于-20℃下保存。
- 4、 细胞裂解液：在分析试验之前，细胞需利用以下方法处理：
  - 1) 贴壁细胞应该用冷PBS轻轻清洗，然后用胰蛋白酶消化，于1,000×g离心5分钟后收集。（悬浮细胞可通过离心直接收集）。
  - 2) 将收集到的细胞用冷PBS洗3次；
  - 3) 将细胞用新鲜裂解缓冲液重悬至密度为 $10^7$ 个细胞/毫升，如果需要，细胞可以进行超声波处理至溶液澄清。
  - 4) 将标本于2-8℃ 1,500×g离心10分钟，弃沉淀，上清即可用于检测或置于-20℃下保存。
- 5、 细胞培养上清或其它生物标本：请1,000×g离心20分钟，取上清即可检测，或将上清置于-20℃或-80℃保存，避免反复冻融。

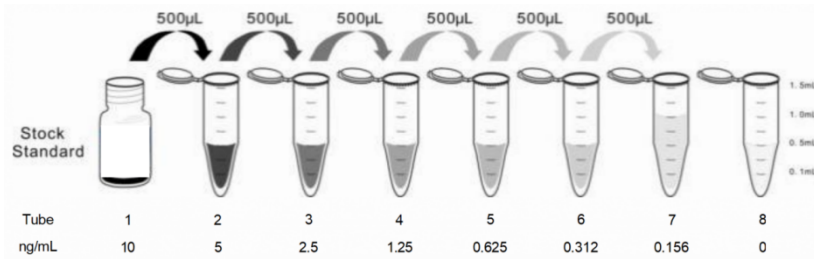
注意：

- 1、 以上标本均需密封保存，4℃保存小于1周，-20℃不超过1个月，-80℃不超过2个月。
- 2、 标本出现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。
- 3、 标本使用前应缓慢均衡至室温，不应加热使之融解。

### 【试剂准备】

- 1、 使用前将所有的试剂和标本缓慢均衡至室温（18-25℃），如果该试剂盒在一段时间内不能使用，请仅取出本次试验所需的酶标条和试剂，并将剩余的酶标条及试剂按指定条件保存。
- 2、 标准品（冻干品）：每瓶标准品加入标准品稀释液1 mL，盖好后室温静置大约10分钟，同时轻轻摇动（避免起泡），例如，其浓度为10 ng/mL。准备7个稀释标准品的EP管，每个EP管中加入500 μL的标准品稀释液，如图所示依次倍比稀释成10 ng/mL，5 ng/mL，2.5 ng/mL，1.25 ng/mL，0.625 ng/mL，0.312 ng/mL，0.156 ng/mL，标准品稀释液（0 ng/mL）直接作为空白孔。为保证实验结果的有效性，每次实验请使用新稀释的标准品溶液。

最新版本以官网为准



3、检测溶液A及检测溶液B：Detection A及Detection B在使用前请用手甩几下或短暂离心处理，以使黏附在管壁或瓶盖的液体沉积到管底。临用前分别以检测稀释液A或B按1:100稀释(如：10 µL检测溶液A加入990 µL检测稀释液A)，充分混匀，稀释前根据预先计算好的每次实验所需的总量配制(100 µL/孔)，实际配制时应多配制0.1-0.2 mL。

4、浓洗涤液：580 mL蒸馏水或去离子水加入20 mL洗涤液 (30×)稀释至600 mL至工作液浓度。

5、底物溶液 请用灭菌的移液器和吸头吸取所需体积的TMB至另一干净容器中使用，容器中剩余的底物应予丢弃，不要倒回TMB瓶中。

注意：

- 1、标准品的稀释不能在板中进行。
- 2、标准品请于临用前15分钟内配制。该标准品只能使用一次。
- 3、标准品、检测溶液A工作液、检测溶液B工作液请使用相应的稀释液配制，稀释液不能混用。用移液枪轻轻吹打充分混匀，避免起泡。为保证实验结果的准确性请使用微量吸管，并校准微量移液器。请依据所需的量精确配制，尽量不要使用微量配制的方法(如吸取检测溶液A时，一次不要小于10 µL)，以避免造成浓度误差。
- 4、请勿重复使用已经稀释过的标准品、检测溶液A工作液和检测溶液B工作液。
- 5、洗涤液 (30x) 中如有结晶析出，请先温育至室温，轻轻混匀，至到结晶完全溶解再进行配制。
- 6、试剂盒中部分试剂为储存液，客户需配置成工作液后使用，在配置过程中可能因为纯净水质量差或水质污染，以及实验中所用耗材洁净度差，造成实验结果不准确，甚至完全错误。请使用双蒸水配置。

#### 【标本处理】

- 1、本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用该试剂盒所造成的样本消耗负责，请使用者使用前充分考虑到样本的可能使用量，预留充足的样本。
- 2、实验前应先预测样本中待测物浓度。当浓度不在标准曲线的范围内时，用户必须确定其特定实验的最佳样品稀释倍数。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。样本稀释需用PBS。
- 3、若所检样本不包含在说明书所列样本之中，建议进行预实验验证其有效性，并注意留存样本。
- 4、使用化学裂解液制备的组织匀浆或细胞提取液可能会由于某些化学物质的引入导致ELISA实验结果偏差。
- 5、若样本为细胞培养上清，因为该类样本干扰因素较多，如：细胞状态、细胞数量、采样时间等，所以可能存在检测不出的情况。
- 6、某些天然蛋白或重组蛋白，包括原核及真核重组蛋白，可能因为与本产品所使用的检测抗体及捕获抗体不匹配，而不被检测出。
- 7、建议使用新鲜样本，保存时间过长可能会因蛋白降解或变性而导致实验结果偏差。

#### 【常规操作步骤】

以下仅为推荐的常规款试剂盒经典实验流程，非常规款试剂盒可以本说明书中**本试剂盒操作步骤**为准。

- 1、 加样：分别设标准孔、待测样品孔、空白孔。设标准孔7孔，依次加入100  $\mu$ L不同浓度的标准品（见试剂准备2）。空白孔加100 $\mu$ L 标准品稀释液（见试剂准备第二步最后一管），余孔加待测样品100  $\mu$ L，酶标板加上覆膜，37°C温育1小时。
- 2、 弃去液体，甩干，不用洗涤。
- 3、 每孔加检测溶液A工作液100  $\mu$ L（临用前配制），酶标板覆膜，37°C温育1小时。
- 4、 弃去孔内液体，每孔用350  $\mu$ L的洗涤液洗涤，浸泡1-2分钟，在吸水纸上轻拍酶标板来移除孔内所有液体。  
重复洗板3次。最后一次洗涤后，吸取或倒出剩余的洗涤缓冲液，将酶标板倒扣在吸水纸上，将残留在孔内的液体全部吸干。此过程也可采用喷射瓶，多道移液器或自动洗板机来完成。
- 5、 每孔加检测溶液B工作液（临用前配制）100  $\mu$ L，酶标板覆膜，37°C温育30分钟。
- 6、 弃去孔内液体，甩干，洗板5次，方法同步骤4。
- 7、 每孔加TMB底物溶液90  $\mu$ L，酶标板覆膜，37°C避光显色（反应时间控制在10-20分钟，不要超过30分钟。当标准孔的前3-4孔有明显的梯度蓝色，后3-4孔梯度不明显时，即可终止）。
- 8、 每孔加终止溶液50  $\mu$ L，终止反应，此时蓝色立转黄色。终止液的加入顺序应尽量与底物溶液的加入顺序相同。如出现颜色不匀一，请轻轻晃动酶标板以使溶液混合均匀。
- 9、 在确保酶标板底无水滴及孔内无气泡后，立即用酶标仪在450nm波长测量各孔的光密度值（OD值）。

注意：

- 1、 试剂准备：准备一次实验所需要的酶标条，其它的可从微孔板上拆下，密封，按照说明书要求保存，以备下次使用。
- 2、 加样：实验操作中请使用一次性的灭菌吸头，避免污染。加样时注意不要有气泡产生，将样品加于酶标板底部，尽量不触及孔壁，轻轻晃动混匀。与反应试剂加入一样，加样过程中第一个孔与最后一个孔加样时间间隔尽量小（一般控制在10分钟以内），如果太大，将会导致不同的“预温育”时间，从而明显地影响到测量值的准确性及重复性。为了测值的准确性，推荐设置复孔进行实验。
- 3、 温育：为防止样品蒸发，实验时请将加上盖或覆膜的酶标板置于湿盒内，以避免液体蒸发，洗板后应尽快进行下步操作，任何时候都应避免酶标板处于干燥状态，同时应严格遵守给定的温育时间和温度。
- 4、 洗涤：充分洗涤非常重要，在每次洗涤过程中，都要将洗涤液完全甩干。洗涤过程中反应孔内残留的洗涤液应在吸水纸上拍干，勿将吸水纸直接放入反应孔中吸水，同时要轻轻擦除板底残留的液体和手指印，避免影响最后的酶标仪读数。如果使用自动洗板机，请在熟练使用后再用于正式实验过程中。
- 5、 反应时间的控制：加入底物后请定时观察反应孔的颜色变化（比如，每隔10分钟观察一次），如观察到颜色较深，请提前加入终止液终止反应，避免反应过强而影响酶标仪光密度读数。
- 6、 底物：底物请避光保存，在储存和温育时避免强光直接照射。
- 7、 如果实验室内湿度低于60%，推荐使用加湿器提高湿度水平。

#### 【本试剂盒操作步骤】

1. Prepare all reagents, samples and standards;
2. Add 100 $\mu$ L standard or sample to each well. Incubate 2 hours at 37°C;
3. Aspirate and add 100 $\mu$ L prepared Detection Reagent A. Incubate 1 hour at 37°C;
4. Aspirate and wash 3 times;

最新版本以官网为准

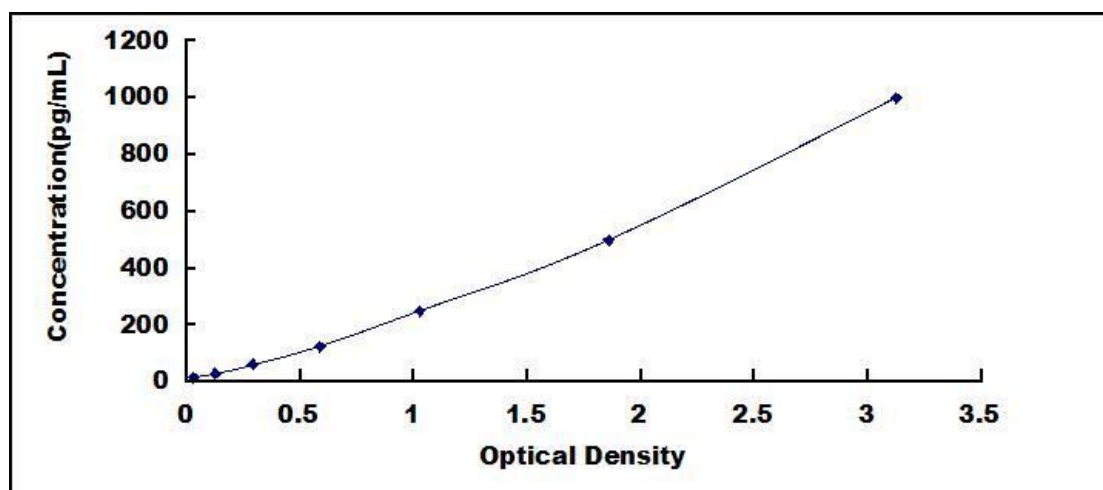
5. Add 100 $\mu$ L prepared Detection Reagent B. Incubate 30 minutes at 37°C;
6. Aspirate and wash 5 times;
7. Add 90 $\mu$ L Substrate Solution. Incubate 10-20 minutes at 37°C;
8. Add 50 $\mu$ L Stop Solution. Read at 450nm immediately.

### 【计算】

各标准品及样本OD值扣除空白孔OD值后作图（七点图），如设置复孔，则应取其平均值计算。以标准品的浓度为纵坐标（或对数坐标），OD值为横坐标（或对数坐标），绘出标准曲线，并计算出标准曲线的回归方程式（最佳方程式应依回归方程计算的 $R^2$ 值来定，以 $R^2$ 值越趋近于1为好），将样品的OD值代入方程式，计算出样品浓度，再乘以稀释倍数，即为样品的实际浓度。

### 【典型数据】

为了便于计算，尽管浓度为自变量而OD值为因变量，我们绘图时仍采用标准品的OD值作为横坐标（X轴），标准品的浓度为纵坐标（Y轴）。同时为了试验结果的直观性，图中提供的是原始数据而非对数值。推荐使用对数值建立标准曲线图。由于实验操作条件的不同（如操作者、移液技术、洗板技术和温度条件等），标准曲线的OD值会有所差异。所提供的标准曲线仅供参考，实验者需要根据自已的实验建立标准曲线。



标准曲线

### 【注意事项】

本试剂盒中使用了稀硫酸作为终止液，其具有轻微腐蚀性，使用时应避免接触衣物或眼、手等皮肤暴露部位。

### 【常见问题】

问题	可能原因	解决方案
标准曲线差	标准品准备不正确	进行正确的标准品梯度稀释
	吸取及洗涤不充分	充分的吸取及洗涤
	移液不精确	检查和校正移液器
精密度低	洗涤不充分	按说明书要求充分洗涤和浸泡
	混匀不充分和吸取试剂不足	充分混匀和吸取试剂
	重复利用吸头、容器和覆膜	使用加样器要更换新的吸头、使用新的容器和覆膜
	加样不精确	检查和校正移液器
OD 值低	每孔加的试剂量不精确	校正移液器，精确加入试剂
	温育时间不正确	保证充足的温育时间

最新版本以官网为准

	温育温度不正确	试剂要平衡至室温并保证准确的温育温度
	酶标记物或底物失效	通过混合酶标记物和底物，颜色应迅速显现来检查
	没有加入终止液	按照说明书实验操作步骤加入终止液
	超出读数时间读数	在说明书推荐的读数时间内读数
<b>样本值</b>	不正确的样本储存方式	正确储存样本，使用新鲜样本进行实验
	不正确的样本收集和处理方法	采取正确的样本收集和处理方法
	待测物质在样本中含量低	使用新鲜样本，重复实验

### 【相关产品】

圣尔生物为您提供本实验相关产品！

产品编号	名称	包装
SB-CP169	ELISA 包被缓冲液 (1×, 包被液)	100mL
SB-CP170	封闭液(Blocking Buffer)	100mL
SB-CP171	ELISA 标准品稀释液/ELISA 样品稀释液(Standard Diluent)	100mL
SB-CP167	TMB 显色液 (HRP 显色用于免疫印迹 WB、免疫组化、ELISA)	100mL

本产品仅供科研使用。