



Rat IL-6 ELISA KIT

Catalog No.	EM63012-01	EM63012-02
Size	48T	96T

实验原理:

本试剂盒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 IL-6 浓度，供科研使用。**使用前请仔细阅读说明书并检查试剂组分。**

白细胞介素 6 (IL-6) 由多种细胞产生，对免疫应答、急性期反应、造血和神经系统有多方面作用。IL-6 的生物学活性主要包括 6 个方面：调节免疫应答、调节造血系统、诱导急性期蛋白、调节肿瘤生长、调节神经内分泌系统和其它。调节免疫应答：诱导 B 细胞分化和产生抗体，诱导 T 细胞表达 IL-2 受体和产生 IL-2，诱导 T 细胞活化增殖和分化、激素，保护神经原抵抗毒 CTL 分化。调节神经内分泌系统：诱导神经细胞分化、支持细胞存活，诱导神经内分泌细胞产生性物质，促进神经重建，诱导急性期蛋白，诱导多种急性期蛋白合成和分泌。调节造血系统：诱导造血干细胞生长，诱导巨核细胞成熟。调节肿瘤细胞生长，促进或抑制肿瘤细胞生长。其它作用：促进中性粒细胞分化、活化或骨细胞，促进角质细胞、肾小球细胞生长，诱导 ACTH 合成，结合 HBV 包膜蛋白。

检测原理:

本实验采用双抗体夹心 ELISA 法。抗大鼠 IL-6 单抗包被于酶标板上，标本和标准品中的 IL-6 会与单抗结合，游离的成分被洗去。加入生物素化的抗大鼠 IL-6 抗体和辣根过氧化物酶标记的亲合素。生物素与亲合素特异性结合；抗大鼠 IL-6 抗体与结合在单抗上的大鼠 IL-6 结合而形成免疫复合物，游离的成分被洗去。加入显色剂，若反应孔中有 IL-6，辣根过氧化物酶会使无色的显色剂现蓝色，加终止液变黄。在 450nm 处测 OD 值，IL-6 浓度与 OD450 值之间呈正比，可通过绘制标准曲线求出标本中 IL-6 浓度。

标本收集:

1. 收集血液的试管应为无热原和内毒素试管。
2. 血浆抗凝剂推荐 EDTA。
3. 避免溶血，高血脂标本。
4. 标本应清澈透明，悬浮物应离心去除。
5. 标本收集后若不及时检测，请按一次用量分装，冻存于 -20℃，避免反复冻融。
6. 可根据实际情况，将标本做适当倍数稀释(建议做预实验，以确定稀释倍数)。

注：正常大鼠血清或血浆样本建议做 1：2 稀释。

试剂盒组成:

试剂盒组成	48 孔配置	96 孔配置	保存
说明书	1 份	1 份	
封板膜	2 片 (48)	3 片 (96)	
酶标包被板	1×48	1×96	2-8℃
标准品	1 瓶	2 瓶	2-8℃
标准品和标本稀释液	1 瓶	1 瓶	2-8℃
浓缩生物素化抗体	1 瓶	2 瓶	2-8℃
生物素化抗体稀释液	1 瓶	1 瓶	2-8℃
浓缩酶结合物	1 瓶	2 瓶	2-8℃ (避光)
酶结合物稀释液	1 瓶	1 瓶	2-8℃
浓缩洗涤液 20×	1 瓶	1 瓶	2-8℃
显色剂	1 瓶	1 瓶	2-8℃ (避光)
终止液	1 瓶	1 瓶	2-8℃

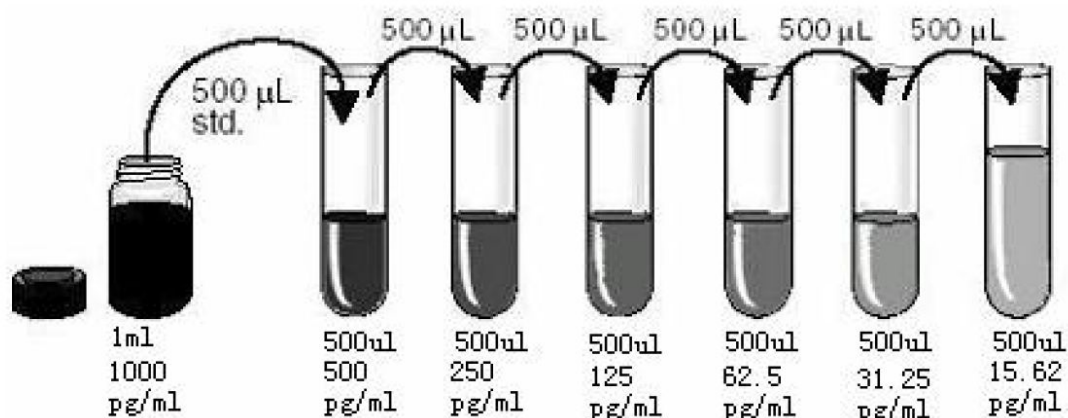
注意事项:

1. 试剂盒保存在 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、浓缩酶结合物装量极少, 运输中颠簸和可能的倒置, 会使液体沾到管壁或瓶盖。因此使用前请用手甩几下或离心处理, 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, 这属于正常现象, 加热使结晶完全溶解后再配制。
4. 若重复使用标准品应按照一次用量分装后, 将其放在-20~-70℃贮存。一次性使用, 避免反复冻融。
5. 不同批号的试剂盒组份不能混用。
6. 充分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, 可在反应过程中每 10 分钟手工混匀一次。
7. 在试验中标准品和样本检测时建议作双复孔或三复孔。

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: 加入标准品/标本稀释液 1ml 至冻干标准品中, 待彻底溶解后, 静置 15 分钟混匀(浓度为 1000 pg/ml)。然后根据需要进行稀释。(建议标准曲线使用以下浓度: 1000、500、250、125、62.5、31.25、15.625、0 pg/ml,)。复溶标准品若未用完请放入-20℃保存, 稀释的标准品不得重复使用。

标准品稀释方法:



- 4.生物素化抗体工作液：以生物素化抗体稀释液稀释浓缩生物素化抗体(1:100)。最好当日使用。
- 5.酶结合物工作液：以酶结合物稀释液稀释浓缩酶结合物(1:100)。最好当日使用。

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 15—30 秒。洗板 4 次。
2. 手工洗板：甩尽孔内液体，每孔加洗涤液 350ul，静置 30 秒后甩尽液体，在厚迭吸水纸上拍干。洗板 5 次。

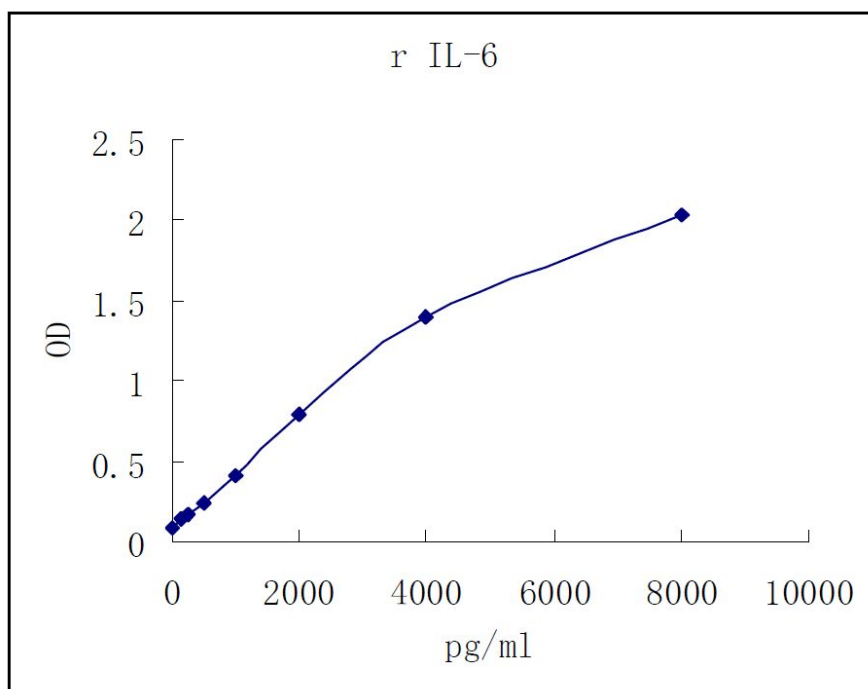
操作步骤:

1. 从已平衡至室温的密封袋中取出所需板条，其它板条请密封放回 4℃。
2. 除空白孔外，分别将标本或不同浓度标准品(100ul/孔)加入相应孔中，用封板胶纸封住反应孔，37℃孵箱孵育 90 分钟。
3. 洗板 4 次。
4. 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。
5. 洗板 4 次。
6. 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℃孵箱孵育 30 分钟。
7. 洗板 4 次。
8. 加入显色剂 100ul/孔，避光 37℃孵箱孵育 10--15 分钟。
9. 加入终止液 100ul/孔,混匀后即刻测量 OD450 值(5 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。
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-6 达 60pg/ml.
2. 特异性：不与 IL-1, 2, 3, 4, 5, 8, 10, 12, IFN, TNF 及 sTNF-RII 等反应。
3. 重复性：板内，板间变异系数均<10%.