

小鼠单克隆抗体亚型鉴定(MAI) ELISA 检测试剂盒

使用说明书

产品货号：BP04326

注意：请在试剂盒保质期内使用，具体保质期见外包装标签。

本产品仅供科学研究使用，不能用于临床诊断。

检测范围：定性检测

检测原理：

本试剂盒利用双抗体夹心法鉴定小鼠淋巴细胞杂交瘤培养上清中单克隆抗体或特异亲和纯化的单克隆抗体的类和亚类以及轻链亚型

(IgG1\IgG2a\IgG2b\IgG3\IgM\IgA\Kappa\Lambda 均可以清晰区分)。本试剂盒采用小鼠抗体共有位点的二抗包被微孔板，与加入的培养上清中的小鼠抗体结合，再加入 HRP 标记的抗小鼠各类、亚类、亚型的抗体来分别反应，最后用 TMB 底物系统显色并通过酶标仪检测吸光度来判断被测单克隆抗体的类或亚类以及亚型。本试剂盒具有极高的分辨率，是您鉴定小鼠单克隆抗体类、亚类以及亚型的可靠工具。

试剂盒组分：

名 称	规 格 (48T)	规 格 (96T)
酶标板	2×96 孔	1×96 孔
阳性对照	1. 8mL	0. 9mL
阴性对照	1. 8mL	0. 9mL
酶标二抗(8 种)	8×3. 2mL	8×1. 6mL
20×洗涤液	2×25mL	1×25mL
样本稀释液	15mL	8mL
显色液 A	15mL	8mL
显色液 B	15mL	8mL
终止液	15mL	8mL
自封袋	2 份	1 份
封板膜	4 张	2 张
说明书	1 份	1 份

适用范围：

用于杂交瘤细胞培养上清中小鼠单克隆抗体 Ig 类、亚类、亚型的鉴定以及相关内容的研究）。

产品特点：

高灵敏度、高特异性、结果容易判定。

保存条件：

2-8℃避光保存。

使用方法：

1. 首先将试剂盒恢复室温（大约 30 分钟），然后用纯水把洗涤液配成工作浓度（一份浓缩洗涤液加 19 份纯水）。
2. 取出酶标板。每个样本需要 8 孔，阳性对照 8 孔，阴性对照 8 孔。多余的用自封袋保存，记得放入干燥剂。
3. 将样本检测孔每孔先加入样本稀释液各 $50 \mu l$ 。然后将 $50 \mu l$ 细胞培养上清（或特异亲和纯化的抗体）再加入酶标微孔板，每个样本加 8 孔；阳性对照和阴性对照各加 8 孔每孔 $100 \mu l$ ，不加样本稀释液。贴上封板膜 37°C 温育 30 分钟。
4. 弃去板内液体，洗板 5 遍后在不掉纤维的吸水材料上拍干或机洗 5 遍。再在每个样本的 8 孔中分别加入 8 种酶标二抗各 $100 \mu l$ ，阴性对照的 8 孔也一样。贴上封板膜 37°C 温育 30 分钟。
5. 吸弃板内液体，洗板 5 遍后在不掉纤维的吸水材料上拍干或机洗 5 遍。每孔分别加入显色液 A 和显色液 B 各 $50 \mu l$ ，换一张新的封板膜贴板避光 37°C 显色 20 分钟。
6. 本试剂盒特异性好一般肉眼即可观察出结果，看显色蓝的那个孔所对应的酶标二抗就知道此样本的 Ig 类或亚类。更可将终止液（每孔 $50 \mu l$ ）终止反应后用酶标仪 450nm 测定波长， 630nm 参考波长双波长测定结果，参看高值孔所对应的酶标二抗就知道此样本的 Ig 类或亚类（阳性对照 OD 一般不小于 0.8，阴性对照一般不高于 0.12，阳性判定标准：样品 OD 大于阴性 OD+0.15，阴性 OD 低于 0.05 按 0.05 算）。

注意事项：

1. 虽然本试剂盒过期后很久还有使用价值但还是请您在有效期内使用。
2. 在检测腹水类单抗时要稀释到 1/5 万，虽然可以分辨但并不建议您这样做。此类样品成分十分复杂，有干扰结果的可能。您也可以将酶标板更换成您自己的抗原包被板那样也是可以用来测试腹水、以至于几乎任意一种形式的单抗样本的检测，结果同样跟上清一样满意。
3. 洗板时一定要把孔加满，停留 10 秒然后弃尽，最后要拍干净。特别是在酶标二抗温育后洗板时一定要把酶吸出而不是甩出，要吸净。这个在洗板时对结果很重要。
4. 一次没用完的板子要带干燥剂放自封袋封好，随盒存放。
5. 拿放板子时不要剧烈抖动，以免孔间交叉污染出现错误结果。
6. 本试剂一般不会出现两个阳性，但出现两个阳性现象有时候是真实存在的，一般会一个 OD 很高，另一个很低但却还能判为阳性，实验分析表明这种情况下以 OD 高值孔为准，出现这种情况有多重原因：①培养的细胞中有“饲养细胞”残留，②抗体本身存在变异，③融合的淋巴细胞取自不纯的 BALB/C，④样品为非特异亲和纯化的抗体或样品是腹水，⑤上清出现少量污染，⑥实验操作粗放，⑦加错试剂。