

大鼠 (Rat) Toll 样受体-4 (TLR-4) ELISA 检测试剂盒

本试剂仅供研究使用

试验原理：

TLR-4 试剂盒是固相夹心法酶联免疫吸附实验 (ELISA)。已知 TLR-4 浓度的标准品、未知浓度的样品加入微孔酶标板内进行检测。先将 TLR-4 和生物素标记的抗体同时温育。洗涤后，加入亲和素标记过的 HRP。再经过温育和洗涤，去除未结合的酶结合物，然后加入底物 A、B，和酶结合物同时作用。产生颜色。颜色的深浅和样品中 TLR-4 的浓度呈比例关系。

试剂盒内容及其配制

试剂盒成份 (2-8℃保存)	96 孔配置	48 孔配置	配制
96/48 人份酶标板	1 块板 (96T)	半块板 (48T)	即用型
塑料膜板盖	1 块	半块	即用型
标准品：8.0ng/ml	1 瓶 (0.6ml)	1 瓶 (0.3ml)	按说明书进行稀释
空白对照	1 瓶 (1.0ml)	1 瓶 (0.5ml)	即用型
标准品稀释缓冲液	1 瓶 (4.0ml)	1 瓶 (2.0ml)	即用型
生物素标记的抗 TLR-4 抗体	1 瓶 (6.0ml)	1 瓶 (3.0ml)	即用型
亲和链酶素-HRP	1 瓶 (8.0ml)	1 瓶 (4.0ml)	即用型
洗涤缓冲液	1 瓶 (20ml)	1 瓶 (10ml)	按说明书进行稀释
底物 A	1 瓶 (6.0ml)	1 瓶 (3.0ml)	即用型
底物 B	1 瓶 (6.0ml)	1 瓶 (3.0ml)	即用型
终止液	1 瓶 (6.0ml)	1 瓶 (3.0ml)	即用型
标本稀释液	1 瓶 (12ml)	1 瓶 (6.0ml)	即用型

自备材料

1. 蒸馏水。
2. 加样器：5ul、10ul、50ul、100ul、200ul、500ul、1000ul。
3. 振荡器及磁力搅拌器等。

安全性

1. 避免直接接触终止液和底物 A、B。一旦接触到这些液体，请尽快用水冲洗。
2. 实验中不要吃喝、抽烟或使用化妆品。
3. 不要用嘴吸取试剂盒里的任何成份。

操作注意事项

1. 试剂应按标签说明书储存，使用前恢复到室温。稀释过后的标准品应丢弃，不可保存。
2. 实验中不用的板条应立即放回包装袋中，密封保存，以免变质。
3. 不用的其它试剂应包装好或盖好。不同批号的试剂不要混用。保质前使用。
4. 使用一次性的吸头以免交叉污染，吸取终止液和底物 A、B 液时，避免使用带金属部分的加样器。
5. 使用干净的塑料容器配置洗涤液。使用前充分混匀试剂盒里的各种成份及样品。
6. 洗涤酶标板时应充分拍干，不要将吸水纸直接放入酶标反应孔中吸水。
7. 底物 A 应挥发，避免长时间打开盖子。底物 B 对光敏感，避免长时间暴露于光下。避免用手接触，有毒。实验完成后应立即读取 OD 值。
8. 加入试剂的顺序应一致，以保证所有反应板孔温育的时间一样。
9. 按照说明书中标明的时间、加液的量及顺序进行温育操作。

E	0.5	0.5	样品	样品	样品	样品	样品	样品	样品	样品	样品	样品
F	0.25	0.25	样品	样品	样品	样品	样品	样品	样品	样品	样品	样品
G	0	0	样品	样品	样品	样品	样品	样品	样品	样品	样品	样品
H	样品	样品	样品	样品	样品	样品	样品	样品	样品	样品	样品	样品

局限

6号标准品以上的结果为非线性的，根据此标准曲线无法得到精确的结果。

试剂盒性能

1. 灵敏度：最小的检测浓度小于1号标准品。稀释度的线性。样品线性回归与预期浓度相关系数 R 值为 0.990。
2. 特异性：不与其它细胞因子反应。
3. 重复性：板内、板间变异系数均小于 10%。

结果判断与分析

1、仪器值：于波长 450nm 的酶标仪上读取各孔的 OD 值

2、以吸光度 OD 值为纵坐标 (Y)，相应的 TLR-4 标准品浓度为横坐标 (X)，做得相应的曲线，样品的 TLR-4 含量可根据其 OD 值由标准曲线换算出相应的浓度。

3、检测值范围：0-8.0ng/ml

4、敏感度：0.01 ng/ml