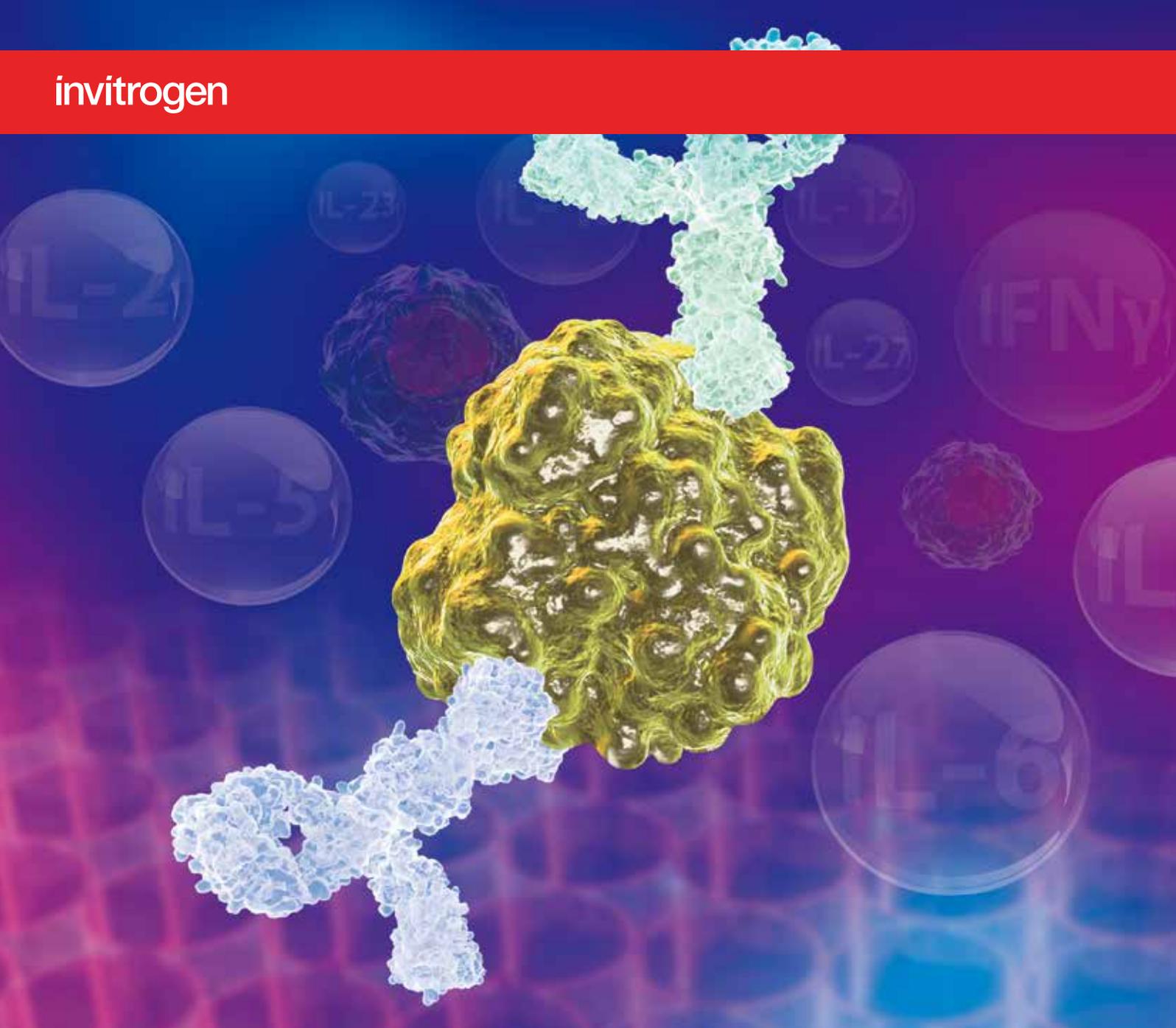


invitrogen



免疫试剂产品指南

ThermoFisher
SCIENTIFIC

eBioscience 产品线包含全面广泛而又颇具创新性的产品组合，其中包括适用于免疫学、肿瘤学和多色流式细胞分析的荧光染料偶联抗体和试剂，以及高度有效的 ELISA 和多重免疫检测试剂盒、重组蛋白和适用于全套生物学系统分析的通用实验室试剂

目录

1. 免疫试剂产品指南	1
2. 免疫试剂技术	2
3. 免疫试剂平台	3
4. 非即用型 ELISA 试剂盒.....	4
Ready-SET-Go! TM ELISA	4
5. 即用型 ELISA 试剂盒	6
Platinum ELISA.....	6
高灵敏度 ELISA	8
6. 一步法 ELISA 试剂盒.....	10
Instant ELISA TM	10
InstantOne TM ELISA	12
7. ELISA 常见问题	15

除非另行说明，否则所有产品都仅限于研究用途，不得用于诊断或治疗程序。

本出版物中使用的所有指定商标均为其各自所有人的财产。

eBioscienceTM、eFluorTM、Full Spectrum Cell AnalysisTM、InstantOneTM ELISA、OneComp eBeadsTM、ProcartaPlexTM、Ready-SET-Go!TM、SAFETM Super AquaBlueTM、The New Standard of ExcellenceTM 和 UltraComp eBeadsTM 为 eBioscience, Inc. 的商标或注册商标，Instant ELISATM 为 Bender MedSystems, GmbH. 的注册商标。FlowLogicTM 为 Inival Technologies 的注册商标。

免疫试剂产品指南

通过分析与疾病相关的指标，可以对疾病潜在风险准确的评估。为了更好地了解这些生物标志物的情况，eBioscience 开展了许多研究，从而制作出多种用于因子表达评估和生物标志物分析的平台，从非即用型的 Invitrogen Ready-SET-Go![™] ELISA 和即用型的 Invitrogen PlatinumELISA，到 Invitrogen ProcartaPlex[™] 多因子免疫试剂盒。

涵盖六个物种的试剂盒可满足您的研究需要

人类 ■ 小鼠 ■ 大鼠 ■ 灵长类 ■ 犬类 ■ 猪

eBioscience 免疫分析试剂都使用相同抗体对为研究项目提供稳固的支持。这也实现了不同 ELISA 平台间的转换，例如从多因子分析转到 ELISA，并得出稳定可比较的数据。

- 任何时间点检测与您的研究领域相关的因子，保持研究的相关性
- 使用来自之前实验平台的数据来节省资源
- 利用在多个平台之间都完全相同的抗体对，根据您研究样品量的不同选择不同平台来进行验证。

这些研究领域内的免疫分析可评估基本研究中的细胞机理与疾病状态，从而推动药物开发。

获得性免疫

黏附与迁移

血管再生

凋亡

骨生物学

癌症生物学

细胞生物学

细胞周期与增殖

细胞信号传导

细胞结构

细胞因子、趋化因子、生长因子

免疫学

先天免疫

代谢

干细胞生物学

转录因子

免疫试剂技术

什么是 ELISA 和多因子试剂盒?

ELISA 与多因子试剂盒日常用于细胞因子、趋化因子、生长因子、磷酸化靶标、免疫球蛋白以及其它免疫标志物的定性与定量评估。从多种生物样本（血清、血浆以及其他体液，比如痰液、尿液等，以及细胞培养上清液和细胞裂解液）中对蛋白质因子进行检测和定量，以作为诸多生物学和病理情况的指标。免疫分析也用于研究细胞转化与激活的基础研究领域，在病态对比常态的生物标志物分析以及毒性分析中被广泛使用，还做为在药物开发的评估工具。

eBioscience ELISA 以及多因子试剂使用两种高特异性抗体的三明治免疫分析技术，识别相同蛋白质上两个不同的表位。这相对于其他仅使用单一抗体的竞争型 ELISA 多加上了一层特异性。

三明治 ELISA 工作流程图



1. 第一种抗体（捕获抗体）将与 ELISA 的加样孔底部或 ProcartaPlex™ 因子试剂盒中的微球结合。
2. 样本在包被好捕获抗体的 ELISA 加样孔中进行孵育，如果是 ProcartaPlex 分析，则在有捕获微球的加样孔中孵育。
在该孵育步骤期间，会通过抗原与捕获抗体之间的特异性结合，在固体表面（加样孔或微球）捕获到特定的抗原。其余样本将被洗掉。
3. 第二种生物素化的或直接 HRP 标记的特定抗体用于检测。检测抗体为三明治免疫分析增加了一层特异性。任何未结合的检测抗体都将被洗掉。
4. 使用 HRP 标记的特异性抗体会使底物的比色变化，形成颜色反应。于 ProcartaPlex 分析，检测试剂是链霉亲和素-PE 共轭物。后者使仪器可以根据荧光强度来对分析物水平进行定量检测。
5. 高抗原浓度会使更多的底物被转换，在 ELISA 实验中就会获得更深的颜色信号，以及在 ProcartaPlex 分析中获得更高的荧光读数。通过与已知浓度的标准曲线进行对比，即可将颜色形成或荧光强度的相关性用于计算样本中的抗原浓度。

免疫试剂平台

量身定制，满足需求



Ready-SET-Go!™ ELISA – 低成本。每款价格实惠的非即用型 ELISA 试剂盒都包括运行 ELISA 所需要的试剂，包括：针对 ELISA 优化的抗体对、标准蛋白、检测抗体、包被缓冲剂、样本稀释液以及 TMB 底物溶液。还可选购 96 孔板。



Platinum ELISA – 更准确的定量数据。经过高度质检过程的即用型 ELISA 试剂盒，提供更低的分析间变异，确保整个研究中数据的一致性。



高灵敏度 ELISA – 检测低含量的细胞因子。增强的三明治 ELISA 可实现低于 1 pg/mL 的检测限，而不会损失分辨率或增加背景值。



Instant ELISA™ – 减少步骤和操作时间，增加工作效率。这款一步法 ELISA 的操作步骤少，您有更多时间用于其他研究工作。



InstantOne™ (phospho) ELISA – 节约时间并减少步骤。1 小时孵育，1 次清洗式细胞信号因子分析，超越行业标准的灵敏度，快速方便地检测总靶标和磷酸化靶标蛋白的含量。



ProcartaPlex™ 多因子试剂盒 – 以更少的样本完成更多因子定量工作。利用 Luminex™ xMAP™ 技术，可在一份 25-50µl 的样本中对多达 50 种因子完成生物标志物分析。相比于传统 ELISA 而言，它可以在相同时间内获得对生物学和疾病上更多因子的了解。（多因子试剂盒详细介绍请参考多因子分析技术手册）

免疫基因组件	Ready-SET-Go!	Platinum	高灵敏度	Instant	InstantOne	ProcartaPlex
96 孔加样板	可选购	•	•	•	InstantOne 加样板	平底加样板
预包被的捕获抗体	•	预包被	预包被	预包被	•	预包被的捕获微球
预稀释的检测抗体	•	•	•	•	•	•
蛋白标准品	•	•	•	有额外的加样孔条	对照细胞裂解物	•
加样板密封膜		•	•	•	•	•
使用手册	•	•	•	•	•	•
停止液		•	•	•	•	
底物溶液	•	•	•	•	•	SA-PE
分析缓冲剂	•	•	•	冻干的样本稀释液	细胞裂解缓冲剂与增强剂溶液	
清洗缓冲剂		•	•	•	•	•
包被缓冲剂	•					

注意：eBioscience 提供多种试剂盒规格，试剂盒按 NIBSC/WHO 标准进行校准。

定制化 ELISA 试剂盒开发

除了已有的试剂盒之外，eBioscience 还提供定制开发服务和相关的专业经验，针对您的研究需求提供综合性的解决方案。



非即用型 ELISA 试剂盒

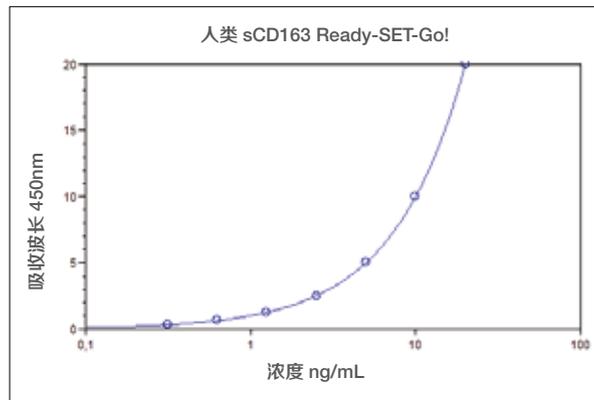
Ready-SET-Go!TM ELISA 包含所有优化后的试剂组件

低成本。实惠的非即用型 ELISA 试剂盒包含了运行 ELISA 所需的试剂，其中包括针对 ELISA 优化的抗体对、标准蛋白、检测抗体、清洗和包被缓冲剂（加样板为选购）。

Ready-SET-Go!TM ELISA 是经验丰富但预算有限用户的理想选择。



Ready-SET-Go!TM ELISA 提供 2 块、10 块和 20 块加样板 (96 孔) 的试剂盒规格, 试剂盒包括执行分析所需的全部试剂(但不包括酸停止液)。96 孔加样板是 10 块和 20 块加样板试剂盒的选购项目。



人类 sCD163 Ready-SET-Go! 标准曲线 ELISA



Ready-SET-Go!TM (RSG) ELISA 的优点

- **灵活** – 提供多种包装规格，包括 2 块、10 块和 20 块加样板的规格，可满足您研究不同的样本量
- **完整易用** – 包括优化的抗体对和重组的标准蛋白。与其他供应商的 ELISA 试剂盒不同，包括 TMB 底物以及所有必需的包被清洗缓冲剂以开展分析。
- **价格实惠** – 可满足最基本的预算要求，满足研究的实际需要

工作流程





即用型 ELISA 试剂盒

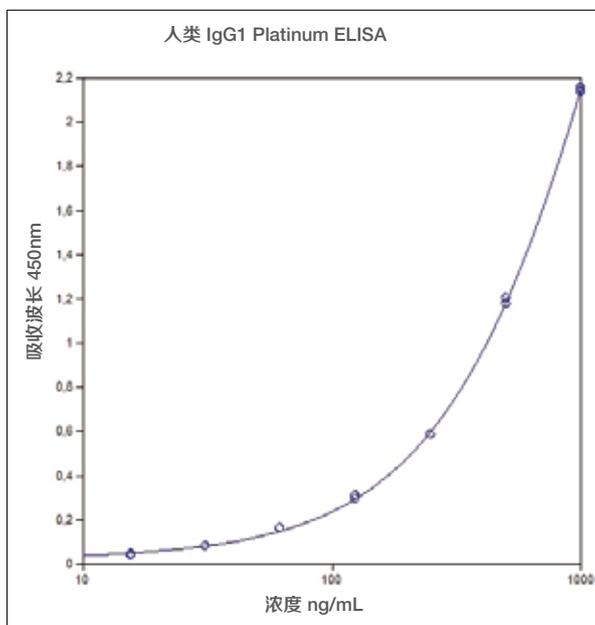
Platinum ELISA

高度质检的 ELISA 解决方案

稳定的定量数据。即用型的三明治 Platinum ELISA 试剂盒适用于多种样本类型中同一种因子的定量，可以提供更低的板内及板间变动。即用型试剂确保了整个研究过程中数据的一致性，Platinum ELISA 保证了批次间的一致性并确保可获得最好的 ELISA 结果。



Platinum ELISA 提供 1 块和 10 块加样板（96 孔）的试剂盒规格，试剂盒包括执行分析所需的全部试剂。



人类 IgG1 Platinum ELISA 的标准曲线



Platinum ELISA 的优点

- **稳健** – 板内及板间 %CV 较低
- **易用** – 包括全部所需分析缓冲剂和试剂
- **经过高度有效的验证** – 针对血清、血浆和细胞培养上清液等样本进行了优化

工作流程





即用型 ELISA 试剂盒

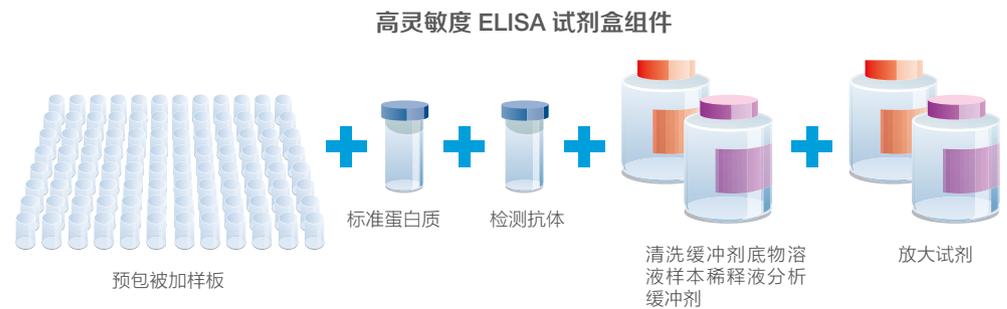
高灵敏度 ELISA

用于人类和小鼠物种的试剂盒

检测少量的细胞因子。增强信号的三明治 ELISA 可实现低于 1pg/mL 的 fg/mL 级别检测线，而不损失分辨率或增加背景值。

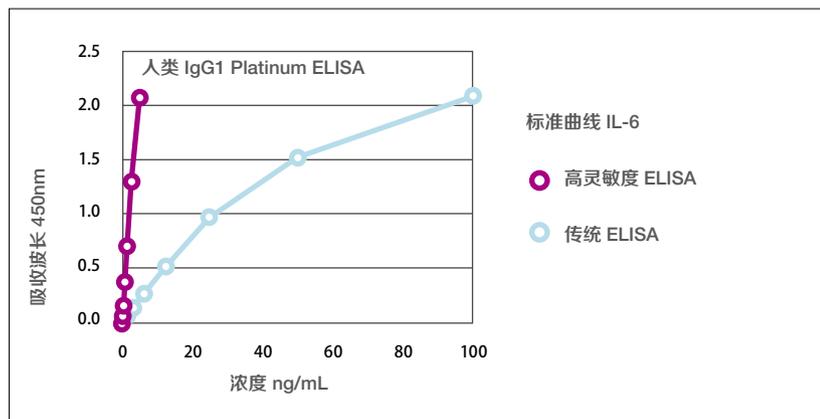
超越传统检测底线的探索

高灵敏度 ELISA 试剂盒提供了低于传统 ELISA 界限的准确定量。这是通过获得专利的信号放大技术，也不会让背景非特异性的信号变强。放大信号构建在传统的辣根过氧化物酶 (HRP) 酶比色法检测的基础之上，实现了更高的灵敏度。



高灵敏度 ELISA (每个加样板 96 孔) 试剂盒规格中包括了执行分析所需的全部试剂。

人类 IL-6 定量比较使用了传统的方法 (Platinum ELISA) 以及高灵敏度试剂盒。ELISA 分析。





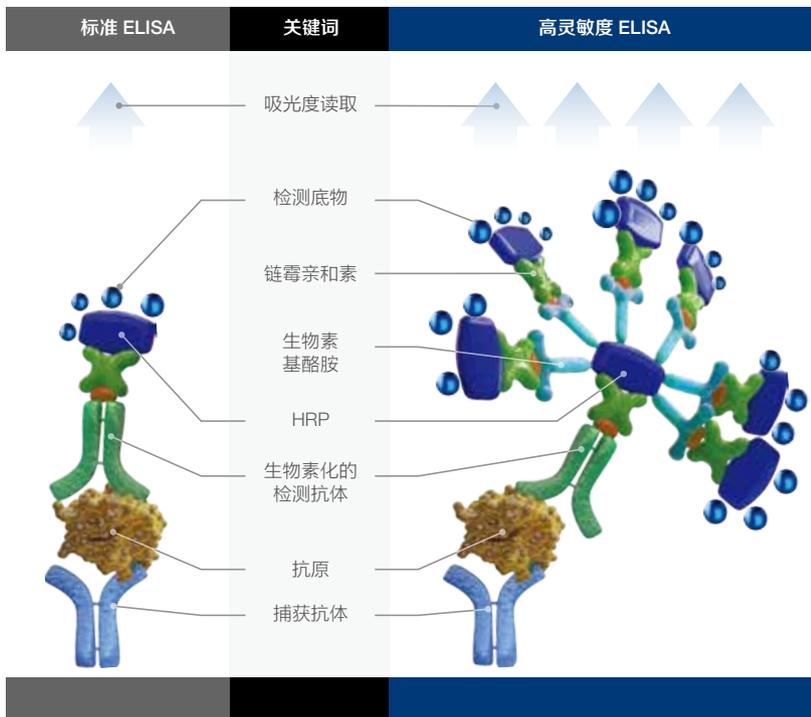
高灵敏度 ELISA 的优点

- **灵敏度** – 检测 1.0pg/mL 的低细胞因子浓度，获得可靠的定量结果
- **需要的样本量少** – 50 μ L 样本量，适用于有限的样本资源
- **易用** – 包括全部所需的试剂
- **设备的兼容性** – 使用标准的酶标仪（在 450nm 处进行吸收波长测量）

高灵敏度技术

eBioscience 高灵敏度 ELISA 通过增强传统比色 ELISA 所获得的信号，来检测表达程度很低的蛋白质。传统的三明治 ELISA 信号开发仅适合于通过生物素 / 链霉亲和素 -HRP 放大的系统。eBioscience 高灵敏度 ELISA 通过额外的信号放大步骤来进一步增强这一信号，该步骤使用了酪胺信号放大试剂来生成多个生物素结合位点，从而可结合更多的链霉亲和素 -HRP 分子。反应的生物素基酪胺与加样孔中的 HRP 数量成比例关系。这一放大步骤倍增的 HRP 分子数量也等比例让最终 TMB 底物的信号增加。

高灵敏度 ELISA 基于 PerkinElmer LAS 的专利，专利号为 5,731,158、5,583,001、5,196,306。



准确测量少量的靶标：针对人类与小鼠靶标灵敏的分析。eBioscience 成功应用了酪胺信号放大技术，增强了传统的 ELISA 的灵敏度，可检测的浓度低至 1.0pg/mL。



一步法 ELISA 试剂盒

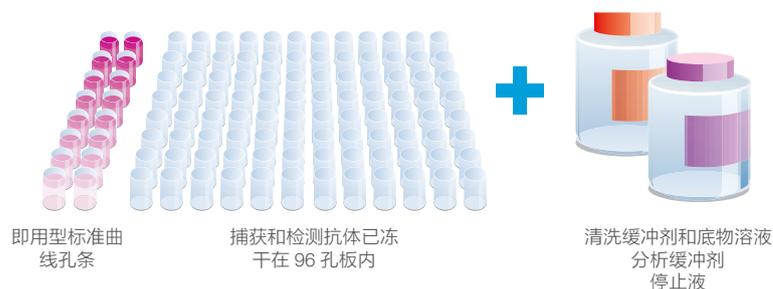
Instant ELISA™

一步法 ELISA

减少步骤和操作的时间，提高工作效率。一步法 ELISA 的操作步骤更少，减少上手操作时间提高了工作效率，留出了更多时间进行其他研究工作。

传统 ELISA 的 17 个步骤		Instant ELISA 的 7 个步骤™	
01	活化加样板		
02	重溶标准蛋白		
03	将样本稀释液添加到样本孔		
04	梯度稀释标准曲线	01	加样板活化
05	添加样本稀释液	02	添加样本
06	添加样本	03	孵育
07	稀释生物素共轭物		
08	添加生物素共轭物		
09	孵育		
10	制备链霉亲和素 -HRP		
11	清洗		
12	添加链霉亲和素 -HRP		
13	孵育		
14	清洗	04	清洗
15	添加 TMB 底物	05	添加 TMB 底物
16	添加停止液	06	添加停止液
17	计算结果	07	计算结果

Instant ELISA 试剂盒组件



Instant ELISA™ (每个加样板 96 孔) 试剂盒规格中包括了执行分析所需的全部试剂。两个单独的包装，试剂盒额外附标准曲线孔条，可以充分利用全部 96 个加样孔来检测样本。



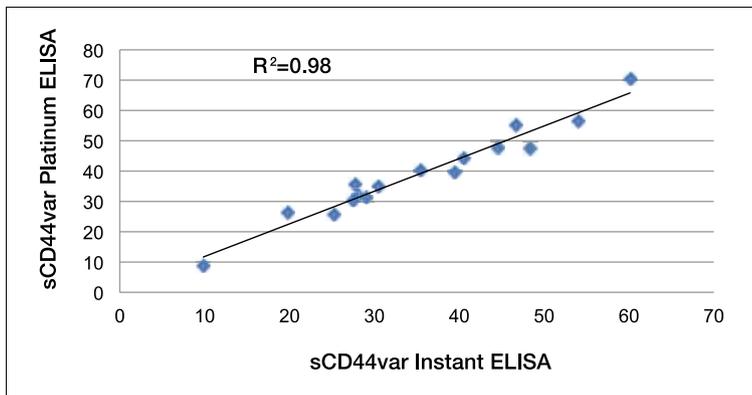
Instant ELISA™ 的优点

- **节约时间** – 操作时间更短，仅需 15 分钟
- **准确度最高** – 无需稀释添加抗体，也无需进行标准蛋白梯度稀释，减少了操作，这意味着减少错误并获得更高度一致的结果
- **更高的价值** – 通过额外的标准品孔条，可完全利用所有 96 个加样孔来检测样本

开始使用 Instant ELISA™

eBioscience 免疫分析利用了大部分分析因子相同的抗体对。这使得利用 Instant ELISA、Platinum ELISA 和 ProcartaPlex™ 多因子试剂盒所得出的数据具有跨平台的性能对照和可比性。例如，如果您正在使用 sCD44var Platinum ELISA，您可以非常放心地转换到 sCD44var Instant ELISA，这两种试剂盒所得到的结果会高度一致。

人类 sCD44var Instant ELISA™ 与 Platinum ELISA 的性能比较



人类 sCD44var Instant ELISA 与 sCD44var Platinum ELISA 试剂盒进行对比测试。十六种血清样本所应用的决定系数为 0.98，证明了 Instant ELISA 与 Platinum ELISA 的性能的一致性。



一步法 ELISA 试剂盒

InstantOne™ ELISA

磷酸化蛋白分析

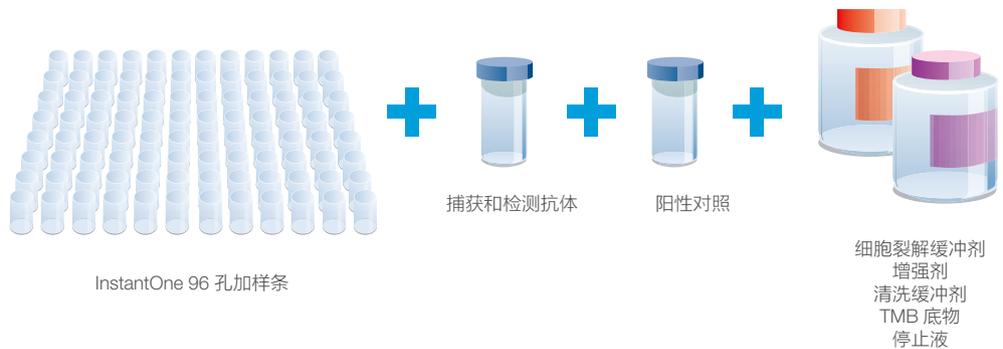
1 小时即可完成的简单方案。 InstantOne 是 1 小时即可完成的一步法磷酸化蛋白分析，以超出行业标准的灵敏度来检测总靶标与磷酸化靶标。

1 小时即可完成的一步法磷酸化蛋白分析 ELISA

InstantOne ELISA 使用传统的三明治 ELISA 形式，但又有独特性，仅有一个清洗步骤，减少了操作的时间，可实现更大的灵活性、易用性。因为在捕获抗体通过专有机制与加样板结合时，同时间目标蛋白与溶液中的两种三明治 ELISA 抗体也反应结合。未结合的分析试剂与非特异性样本清洗后（与传统的三明治 ELISA 类似），通过比色检测来检测特异性的蛋白表达。整个流程花费时间约一小时。在同一个加样板上不同的加样孔，可同时对总靶标和磷酸化靶标进行对比分析，相较其它方法必需分开检测来的方便与快速。

InstantOne ELISA 除了简便之外，还为分析增添了灵活性。由于抗体并未预先包被在加样孔中，因此可在同一块加样板的不同加样孔中，同时分析几种不同的靶标。只需要在不同加样孔中加入相同的样本裂解物并添加不同的抗体对试剂，就可以实现这一目的。

Instant ELISA 试剂盒组件



InstantOne™ ELISA（每个加样板 96 孔）试剂盒规格中包括了执行分析所需的全部试剂。



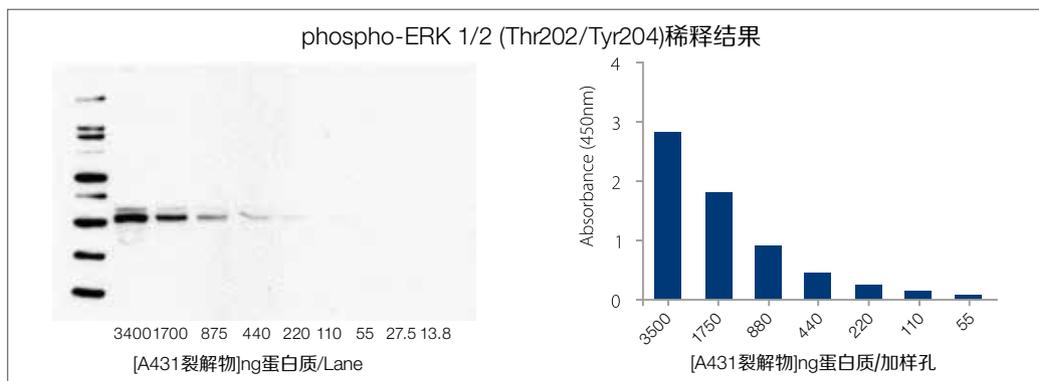
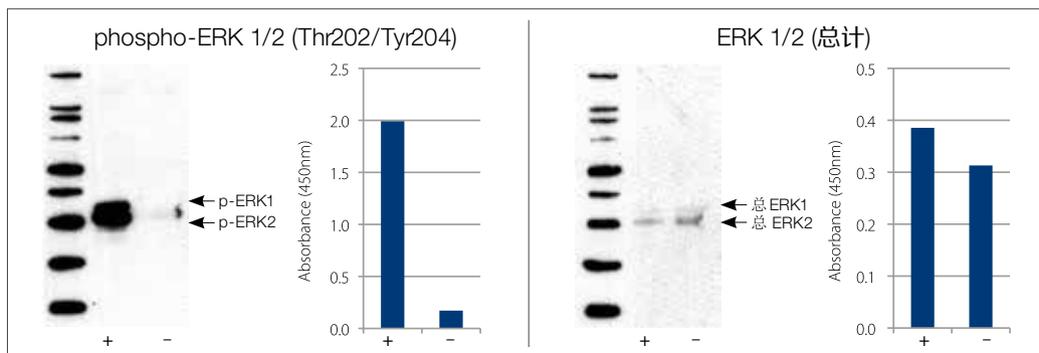
InstantOne™ ELISA 的优点

- **节约时间 - 快速** - 耗费时间约为传统 ELISA 的 1/3
- **简单** - 仅有一个清洗步骤，减少操作的时间
- **灵活** - 实现了在一块加样板上可同时对总靶标和磷酸化靶标进行对比分析或是多种磷酸化蛋白家族的分析
- **灵敏** - 超出行业标准，仅需要 2000 到 3000 个细胞
- **相容** - 传统的酶标仪读取数据

InstantOne 1 小时工作流程



使用相同的抗原特异性抗体 (EKR 1/2) 的 ELISA 和蛋白质印迹法结果



ELISA 常见问题

ELISA 常见问题	
问题	解决方案
背景值高	清洗不正确
	清洗不充分，或遗漏某个清洗步骤可能导致高背景；检查 ELISA 的清洗缓冲剂体积，并确保执行了所有建议的清洗步骤；确保 eBioscience ELISA 清洗缓冲剂的使用与稀释方式正确。
	让 ELISA 清洗缓冲剂在加样孔中停留至少 15-30 秒。
	底物受到污染
	在与金属离子或氧化试剂进行搭配之前，请确认底物未受到污染。底物溶液未反应前为无色溶液。
	稀释液受到污染
	大部分 ELISA 稀释液都含有蛋白基质物。首次开启时，避免 ELISA 稀释液受到污染；使用无菌移液管来从瓶中转移 ELISA 稀释液。
	底物暴露于光照
	暴露于光照可能导致底物出现蓝色。将溶液保存在暗处，直到准备加入到加样板时再取出。
	共轭物稀释错误
确保根据手册中的指示来稀释共轭物，共轭物浓度过高可能导致背景值高。	
培养时间 / 温度错误	
遵循 ELISA 测试方案中孵育时间和温度的指示。	
高分析间 CV	在清洗 / 移液期间因刮擦导致包被脱落
	在清洗加样板或对标样和样本进行移液时，请小心操作，不要刮擦加样孔的内表面。
	样本未均匀混和
	确保用于测试的样本均匀，在添加到 ELISA 加样板之前混匀。
	边缘效应
	避免在环境条件不停变化的地方孵育加样板（比如通风橱或通风窗口），在孵育期间密封 ELISA 加样板并置于 400rpm 的旋转底座上进行孵育。
	在孵育期间请勿堆叠加样板。
	移液器未经正确地校准
确保使用的移液器经过正确地校准。	
清洗不正确	
清洗不充分，或遗漏某个清洗步骤可能导致 CV 值偏高。	
请勿减少清洗液体积或清洗步骤次数，让 ELISA 清洗缓冲剂在加样孔中停留 15-30 秒。	

ELISA 常见问题排除	
问题	解决方案
标准曲线相关系数差	冻干标准蛋白重溶体积错误
	确保冻干粉以正确体积正确重溶液；手册中和 / 或小瓶标签上标示了重溶体积。
	重溶时间太短
	确保充足的时间来进行重溶过程，以完全溶解冻干粉末。
	对浓缩存储标准蛋白的稀释错误
	根据手册确保将提供的浓缩存储标准蛋白正确地进行稀释。
	存储材料 / 预稀释液的保存方式错误
	手册中给出了存储标样溶液以及与稀释液的保存条件。请遵循这些建议的指导原则。
	标准蛋白稀释步骤混和不当
	制备浓缩标样的梯度稀释，并在每个稀释步骤都完全的进行混和。
波长测量错误	
确保使用的光度计调整到了正确的波长，请对照参考波长进行核实。	
使用了来自不同批次的标准蛋白	
仅使用执行分析所用的试剂盒中提供的标准蛋白，请勿替换为不同批次试剂盒中的标准蛋白。	
OD 值偏低	以 TMB 底物进行孵育的时间太短
	测试方案中标注的时间可能因温度或其他分析条件的不同而变化(温度、试剂盒使用年限、湿度)。
	观察加样板上的颜色生成，并根据颜色变化判断停止底物反应。我们建议加入 ELISA 停止液的时机为：最高浓度的标准蛋白显示出深蓝色。
	或者您可以在加入 TMB 底物溶液之后，利用 ELISA 酶标仪来监测 620nm 处的颜色生成情况。底物反应应当在 OD 值达到 0.9 - 0.95 之时尽快停止（用 ELISA 停止液）。
	冻干 ELISA 标准蛋白的重溶体积错误
	使用手册和 / 或小瓶标签上所指定的缓冲液和体积来进行重溶。
确保给出了充足的时间来进行重溶过程，以完全溶解冻干粉末。	
摇动	
确保在指定的孵育期间，按照指明的速度在摇床上摇动加样板。如果在期间内没有摇动加样板，则可能导致 OD 值偏低。	

ELISA 常见问题排除	
问题	解决方案
无显色	ELISA 试剂保存方式不正确
	所有 ELISA 试剂盒组件的保存条件都已经 在手册中给出 — 请遵循这些指导原则。
	遗漏任何孵育步骤
	确保根据描述执行 ELISA 检测方案的每个步骤。Platinum ELISA 试剂盒中提供了额外的颜色试剂（绿色、蓝色以及红色的染料）来帮助执行正确的使用步骤。
	加样孔在清洗后或操作期间干燥
	在清洗后，用吸水垫或纸巾轻触 ELISA 加样孔，除去多余的 ELISA 清洗缓冲剂。清洗后立即使用加样孔，或将其上下倒置在湿润的吸水纸巾上，但不得超过 15 分钟。
ELISA 样本或标准曲线过饱和	样本不适合进行 ELISA 测试
	手册中提供了适合于进行该因子 ELISA 测试的样本列表，其他样本可能不适合进行该 ELISA 测试。
	对样本 / 标准蛋白的稀释错误
	遵循每个产品说明书进行标样和样本的稀释。
	使用了错误的稀释剂
	仅使用试剂盒中提供的稀释液来稀释样本。
	波长测量错误
	确保使用的光度计调整到了正确的波长，请对照手册中的参考波长进行核实。
	TMB 底物的显色时间太长
	说明书中标注的时间可能因温度或其他分析条件的不同而变化（温度、试剂盒使用年限、湿度）。
	观察加样板上的颜色生成，并根据颜色变化判断停止底物反应，我们建议加入停止液的时机为：最高浓度的标准蛋白显示出深蓝色。
	或者您可以在加入 TMB 底物溶液之后，利用 ELISA 酶标仪来监测 620nm 处的颜色生成情况，底物反应应当在 OD 达到 0.6 - 0.65 之时尽快停止（用停止液）。
样本不适合进行测试	
手册中给出了适合于进行测试的样本列表，其它类型样本可能不适合进行测试。	
孵育时间 / 温度错误	
遵循关于孵育时间和温度的测试方案。	
在孵育期间未盖好加样板	
在孵育期间盖好加样板盖可以防止液体蒸发和污染，每个试剂盒中都提供了加样板盖，在每个孵育步骤中都使用新的加样板盖。	



赛默飞
官方微信



赛默飞
生命科学官方微信

免费服务电话: 800 820 8982/400 820 8982
销售服务信箱: sales.china@thermofisher.com
技术咨询信箱: LifeScience-CNTS@thermofisher.com

ThermoFisher
S C I E N T I F I C