

invitrogen



ProQuantum高灵敏度免疫检测试剂

新一代ELISA蛋白定量平台

ThermoFisher
SCIENTIFIC

高特异性和高灵敏度测量蛋白因子

Invitrogen™ ProQuantum™高灵敏度免疫检测试剂盒为即用型试剂盒，能够轻松对极少量的样本进行高特异性和高灵敏度的蛋白质表达量检测。检测流程十分简单，仅需一个抗体孵育步骤，将孔板放入任何qPCR仪器中进行信号检测前无需进行洗涤步骤。

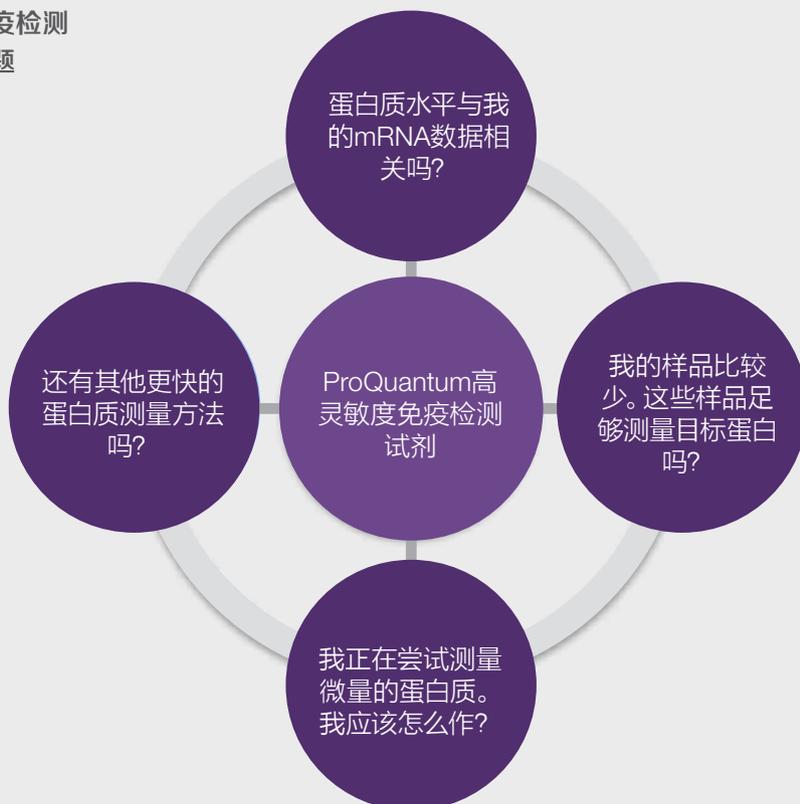
数据分析是在赛默飞免费云平台上开发的软件进行。分析平台是一个经济实惠的、可扩展的开放平台，为研究人员提供便利。

优点包括：

- **灵敏度高** — 在检测低水平蛋白质时，比其他传统方法（例如ELISA）具有更高的特异性
- **样品消耗少** — 仅需使用2-5 μL样品

- **工作流程快速简单** — 无需洗涤步骤，获得结果通常仅需2小时
- **数据线性范围广** — >5 log unit, 省去了稀释样品进线性范围的需要
- **无需购买昂贵的、专有的仪器** — 可在任何qPCR仪器上运行
- **内置直观的免费云平台软件** — 轻松快速大批量的分析数据和统计组对比

ProQuantum高灵敏度免疫检测试剂解决您蛋白质定量难题



工作原理

ProQuantum免疫检测试剂盒利用邻位连接测定 (PLA™) 技术结合抗原-抗体成为结合物, 后通过qPCR信号扩增及读取数据 (图1)。

该检测分为两步:

A. 寡核苷酸引物偶联的抗体对与分析目标蛋白结合

每个试剂盒中提供两种抗体偶联物: 3' 端引物和5' 端引物, 各别与两个靶标特异性抗体偶联。当抗体对与蛋白质的两个不同表位结合时, 3' 和5' 引物会彼此接近。

B. 通过DNA连接酶连接两端引物, 并通过Applied Biosystems™ TaqMan® qPCR检测试剂盒进行扩增

只有当抗体对与蛋白结合时 (A), 对应的2端引物才能与互补的夹板引物结合, 并随后通过DNA连接酶彼此连接 (B) 引物连接后, 通过95°C热灭活使连接酶、抗体和其他蛋白质变性, 仅留下100个碱基的连接引物, 其浓度与第一阶段抗体-蛋白结合的水平相应。将该链接引物使用TaqMan检测试剂盒进行40个qPCR循环的扩增信号。

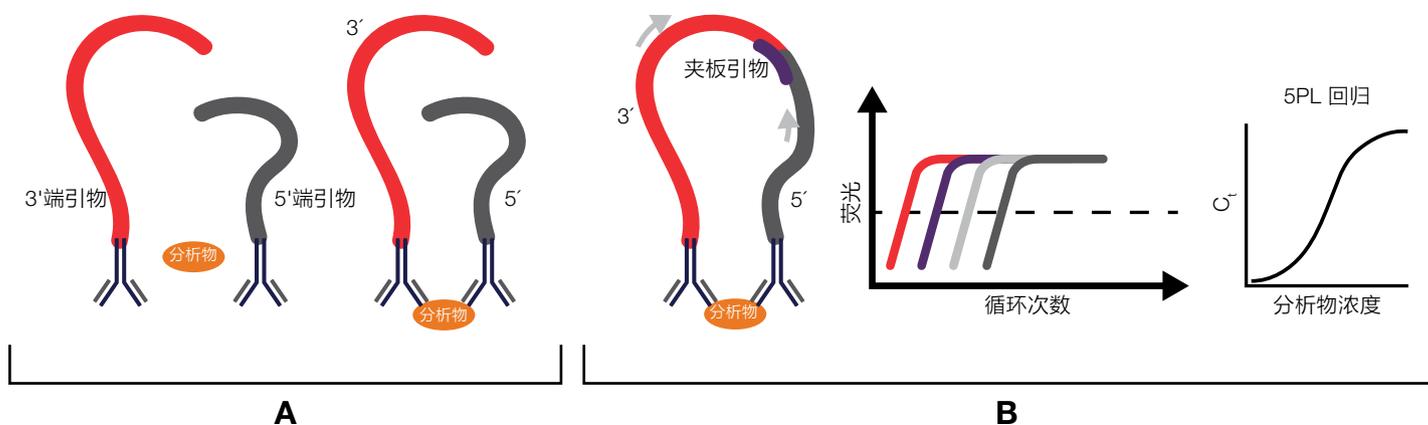


图1.ProQuantum免疫检测工作原理。

试剂盒里包含什么？

每个试剂盒都提供所需的所有试剂，试剂量足以运行96个反应（图2）。

每个试剂盒包含：

- 2个蛋白质标准品（冻干粉）
- 检测稀释缓冲液
- 抗体引物稀释缓冲液
- 抗体-引物A
- 抗体-引物B
- qPCR预混液
- 连接酶

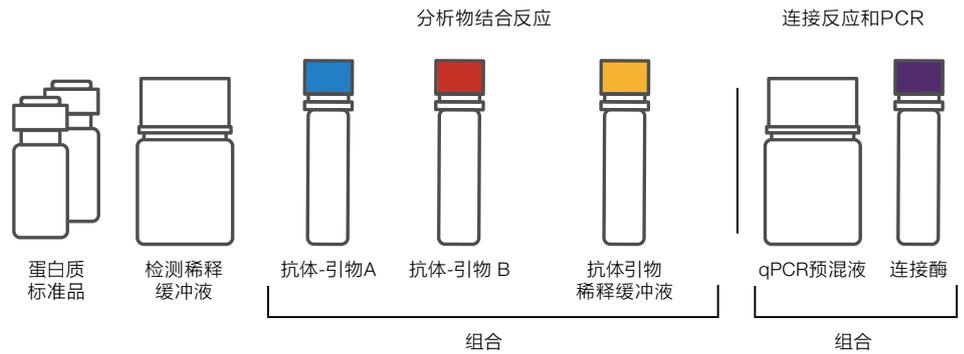


图2. ProQuantum试剂盒内容物。组分已进行颜色编码，以便于使用。

检测工作流程

检测工作流程非常简单。与诸如ELISA的传统工作流程相比，此种检测的孵育步骤更少，且无需洗涤步骤，获得结果的时间也更快（图3和图4）。

建议在工作板上进行所有制备步骤，包括混合抗体引物，对未知样品进行10倍稀释，以及对蛋白质标准品进行连续稀释。

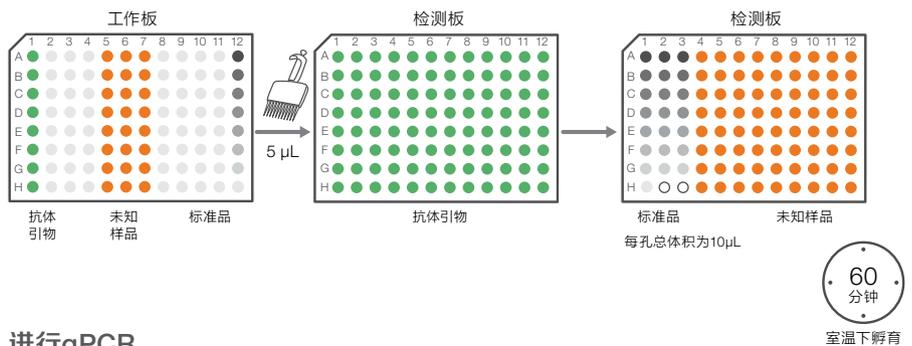
检测运行可在2小时内完成。首先进行孵育步骤，使抗体与靶标分析物结合，孵育时间1小时。第二步是添加qPCR反应预混液，并将检测板放入qPCR仪器进行连接酶反应及qPCR扩增读板。



图3. 相比于ELISA的检测运行时间。

结合分析物

先在工作板将抗体引物，样品等如需稀释步骤的部分在工作板完成稀释
在检测板所有孔中加入5 L抗体引物混合液。
然后在适当的孔中添加5 L标准品或未知样品。



进行qPCR

在所有检测板的孔中添加40 μL qPCR反应预混液。

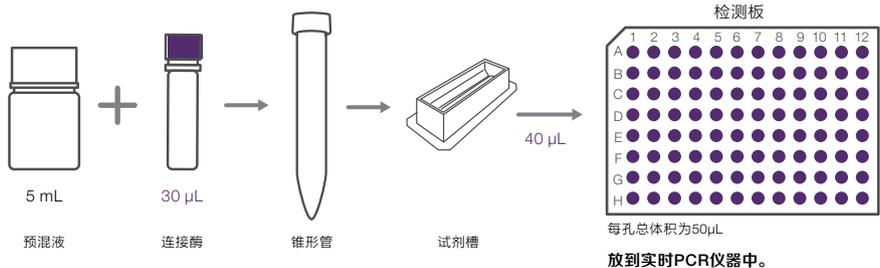


图4. 检测运行步骤示意图。此示意图仅为示例，在整个96孔板上运行一式三份的5 μL样品。样品体积最少可至2 μL。

ProQuantum技术如何进行质检?

我们拥有超过32年的免疫分析产品的经验从ELISA到多因子检测, 并由此开发出一种高性能的检测技术, 能够提供最优质的数据。ProQuantum平台能够以优异的灵敏度、数据线性范围和精密度测量目标靶标(图5-8)。

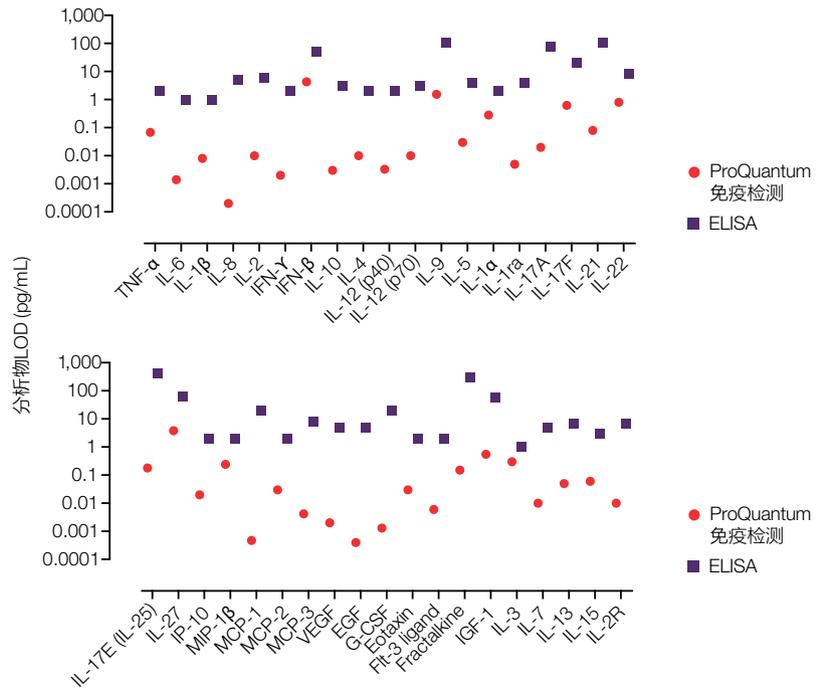


图5.分析灵敏度。 检出限 (LOD) 定义为高出背景2个标准偏差。对比多个人类细胞因子靶标的LOD的比较表, ProQuantum平台的灵敏度比ELISA高约10-1,000倍。

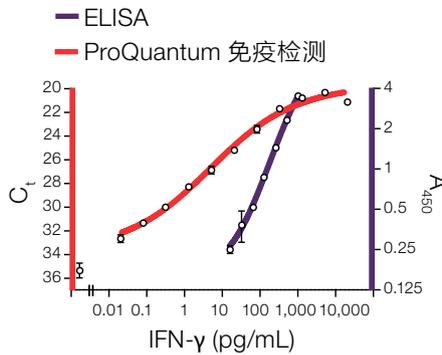


图6.广泛动态线性范围。 ProQuantum检测的标准曲线比ELISA标准曲线广, 低浓度分辨率更好。

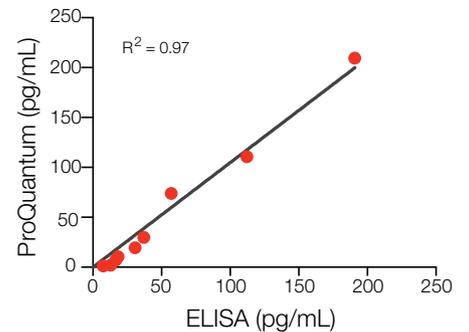


图7. 人血清IL-8 ProQuantum与ELISA数据相关性。 通过上图显示了两个平台之间的相关性数据。

参数	检测内精密度			检测间精密度		
	样品1	样品2	样品3	样品1	样品2	样品3
平均测量浓度 (pg/mL)	439	91	21	409	88	20
CV (%)	6	6	8	1	1	6

图8.精密度。 在同一检测中不同10个孔检测相同且浓度已知的人IL-6样品(检测内精密度)。在三次不同的检测中测定10个浓度已知的人IL-6样品(检测间精密度)。

每个试剂盒均已在天然样品（例如血清）上进行了测试，并通过蛋白质水平、加标和回收率、稀释线性和平行性等测试参数进行评估（图9和10）。根据NISBC蛋白校准标准品。

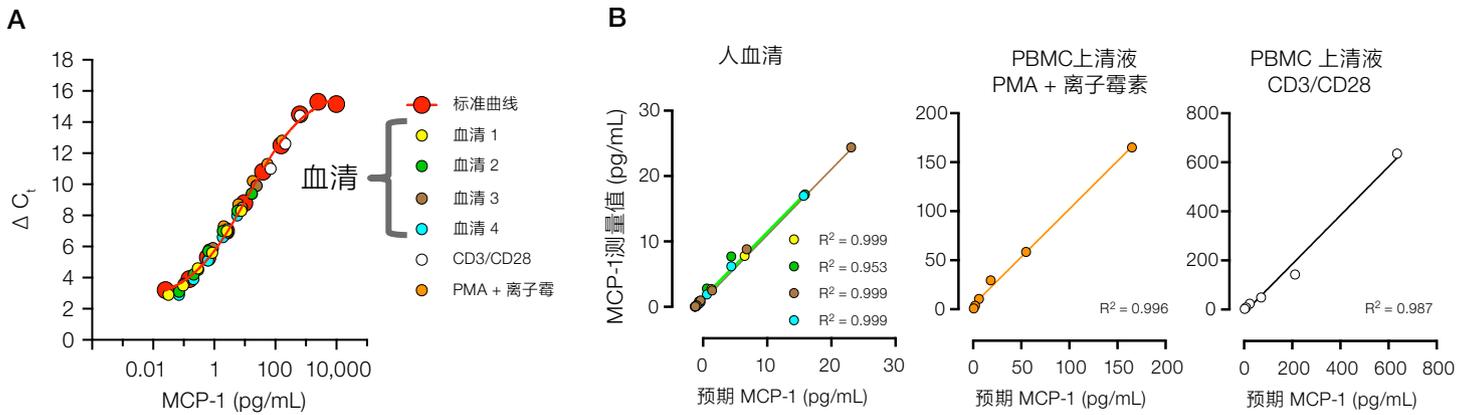


图9. 稀释线性和稀释平行。 (A) 对重组蛋白和在天然样品中发现的天然蛋白的检测显示出可比性的结果。对血清和上清液样品进行检测，并比对MCP-1标准曲线以显示平行性。(B) 线性表明标准曲线中观察到的信号与稀释化学计量原理匹配。血清和上清液样品显示，测得的结果与预期的结果在曲线的线性范围内相同。

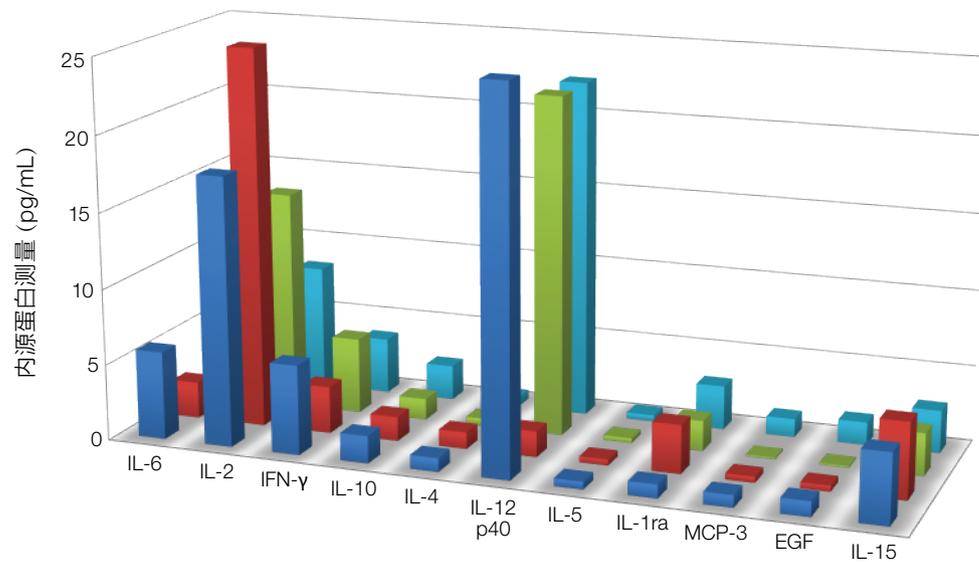


图10. 来自4个供体的正常人血清中可检测的蛋白质水平，使用各种ProQuantum免疫检测试剂进行测量。 所有样品均在其各自标准曲线的范围内显示出差异化的蛋白质水平。低于25pg/mL的蛋白浓度值通常无法在ELISA平台获得明显差异的变化。

赛默飞云平台ProQuantum分析软件进行数据分析

提供基于赛默飞云平台的直观Invitrogen™ ProQuantum™分析软件支持您的数据分析。此提示软件分步骤帮助您设置分析,包括标准曲线稀释计算、板布局设定以及定制化实验室工作台指示(图11)。在实验室工作台上完成检测后,将您从qPCR仪器上读取的数据传到ProQuantum云应用后分析也会自动进行。分析功能包括标准曲线鉴定、离群值检测、4或5PL回归拟合、未知样品的结果计算(以pg/mL为单位)以及分组统计。

现代实验室正在经历一场技术革命。连接到Thermo Fisher Cloud时,可以随时随地轻松安全的访问结果,并可与同事安全共享。请用电脑访问apps.thermofisher.com/apps/proquantum,以获得可连接云平台的免费ProQuantum软件

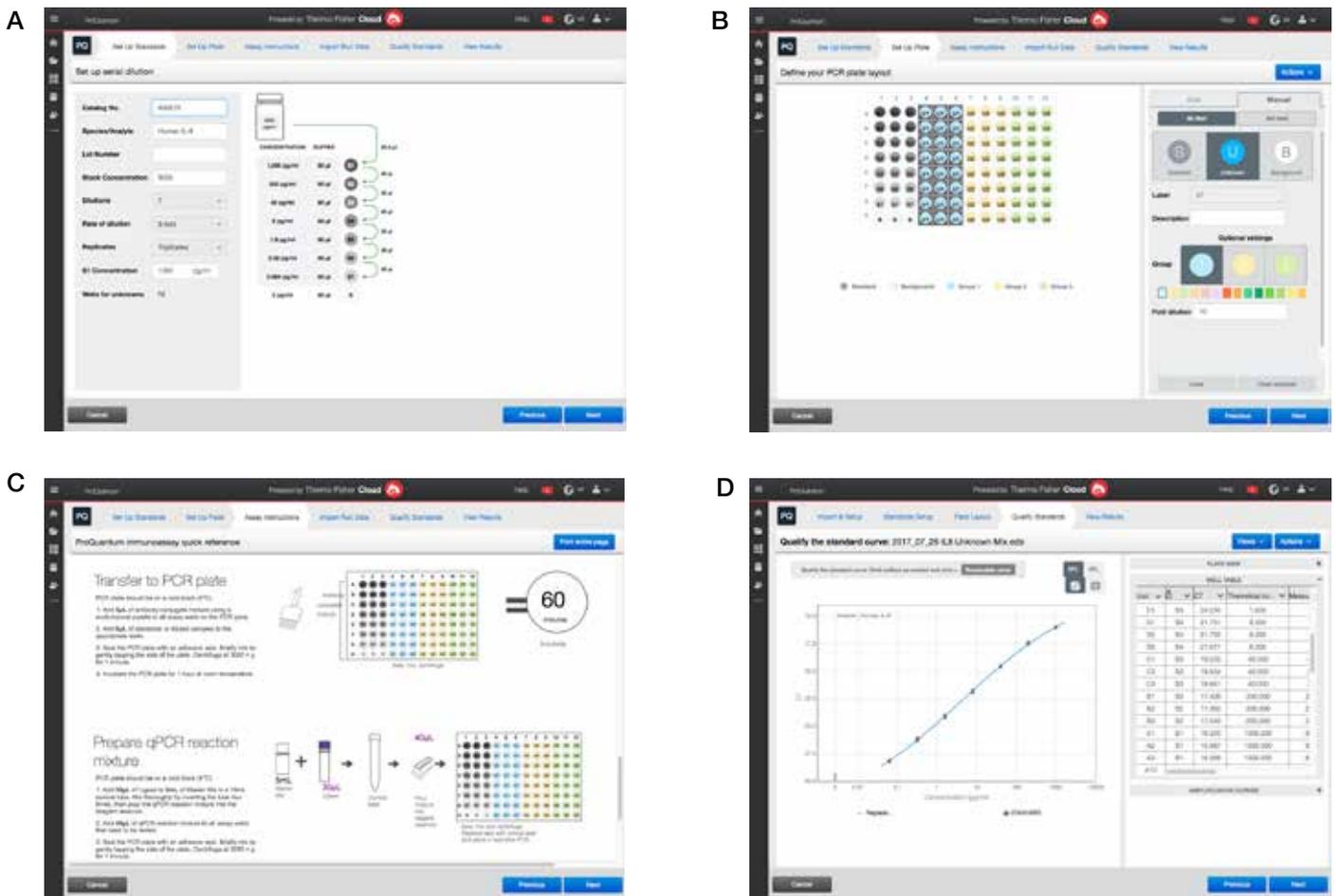


图11.使用ProQuantum软件进行检测设置和分析。(A) 标准曲线设置。(B) 孔板设置。(C) 定制化实验室指示。(D) 数据和结果。

需要一台新qPCR仪器？

Applied Biosystems™ QuantStudio™ 3和5实时PCR系统采用了我们最新的触摸屏可用性技术，允许您轻松获得所需数据。该系统的设计使得无论是新手还是行家都可轻松驾驭，此实时PCR系统简单易用且价格实惠，同时又不会损害性能或质量。有关更多信息和其他系统选项，请访问 thermofisher.com/quantstudioqpcrfamily



* With internet access and Thermo Fisher Connect

其它免疫分析相关产品

Invitrogen ELISA 试剂盒

利用高度验证的 Invitrogen ELISA 试剂盒对单个分析物进行可靠定量分析。涵盖了细胞因子、趋化因子和生长因子、免疫肿瘤学、神经生物学、磷酸化特异性及免疫球蛋白等研究领域。多达16个物种的ELISA试剂盒。

请访问thermofisher.com/ELISA

Quantigene 多基因检测试剂

利用单个生物样品，无需抽提核酸，类ELISA工作流程，对多达 80 个 RNA 靶标进行多重分析。

请访问thermofisher.com/quantigene

有关最新的产品列表和更多信息，请访问 thermofisher.com/proquantum



赛默飞
官方微信



赛默飞
生命科学小助手

免费服务电话：800 820 8982/400 820 8982

信息咨询邮箱：cnbidmarketing@thermofisher.com

ThermoFisher
SCIENTIFIC