

酶联免疫吸附测定 (ELISA)

溶液和试剂配制

1. 包被缓冲液: 碳酸盐缓冲液 (pH 9.6)
2. 洗涤液: PBST缓冲液。按500 μ L Tween-20/1L PBS的比例, 将PBS缓冲液和Tween-20混匀, pH 7.2-7.4, 0.22 μ m滤膜过滤除菌。
3. 稀释液: 0.1% BSA溶液, 用BSA和PBST缓冲液配制而成。
4. 封闭液: 1% BSA溶液, 用BSA和PBST缓冲液配制而成。
5. 底物存储液: 10 mg/mL TMB, 用TMB和DMSO配制而成。
6. 底物稀释缓冲液: 由 Na_2HPO_4 (0.1 M) 和柠檬酸 (0.1 M) 配制, pH 5.0。
7. 终止液: 2N H_2SO_4

实验操作流程

1. **包被**: 用包被缓冲液将特异性的包被抗体稀释至合适浓度 (抗体稀释度可参考产品网站), 每孔加100 μ L包被抗体稀释液到ELISA板孔中, 4°C孵育过夜或37°C孵育2h。
2. **洗涤**: 弃去孔内液体, 每孔加300 μ L洗涤液, 轻微震荡2 min后甩干。重复3-5次。
3. **封闭**: 每孔加200 μ L封闭液, 37°C孵育1-2h。
4. **洗涤**: 弃去孔内液体, 每孔加300 μ L洗涤液, 轻微震荡2 min后甩干。重复3-5次。
5. **加样**: 用样本稀释液将待测样本和标准品稀释至合适浓度, 每孔加100 μ L稀释后的液体。同时设空白对照孔 (加100 μ L样本稀释液), 37°C孵育1-2h。
6. **洗涤**: 弃去孔内液体, 每孔加300 μ L洗涤液, 轻微震荡2 min后甩干。重复3-5次。
7. **加检测抗体**: 用稀释液按适当比例稀释检测抗体 (HRP标记), 每孔加100 μ L, 37°C孵育1-2h。
8. **洗涤**: 弃去孔内液体, 每孔加300 μ L洗涤液, 轻微震荡2 min后甩干。重复3-5次。
9. **显色**: 每孔加100 μ L底物液, 37°C避光孵育10-20 min。
10. **终止反应**: 每孔加50 μ L终止液, 终止酶促反应。
11. **结果读取**: 用酶标仪在450 nm波长处测定各孔吸光度值。根据标准品的浓度和对应的吸光度值绘制标准曲线, 并依据样本的吸光度值从标准曲线上计算出目标抗原的含量。

实验相关产品推荐

1. 抗体网站: <https://www.targetmol.cn/all-antibodies>
2. 二甲基亚砜 (DMSO), T0341
3. Tween 20, T9526
4. TMB, T19071; TMB dihydrochloride, T19069
5. 牛血清白蛋白 (BSA), T5664

