

## ELISA试剂盒缓冲液(磷酸盐体系, 96T)

### 【产品名称】

ELISA试剂盒缓冲液(磷酸盐体系, 96T)

### 【规格】

96 tests

### 【货号】

EBS-002

### 【产品组分】

表1.产品组份

ID	组份名称	规格 (96T)	物理状态	存储条件	
				未开启	已开启
EBS002-C01	High-bind plate	1 plate	固体	2-8°C	2-8°C
EBS002-C02	Coating buffer	12 mL	液体	2-8°C	2-8°C
EBS002-C03	10xWashing Buffer	60 mL	液体	2-8°C	2-8°C
EBS002-C04	Blocking buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
EBS002-C05	Substrate solution	12 mL	液体	2-8°C, 避光	2-8°C, 避光
EBS002-C06	Stop Solution	7 mL	液体	2-8°C	2-8°C

### 【储存条件及有效期】

未开封: 该产品保存于2°C ~ 8°C, 有效期为12个月, 有效期见外包装箱标签。

已开封: 该产品开封后各组分按照表1存贮条件保存, 有效期自开封之日起为30天。

注: 1. 不要使用过期试剂。

2. 试剂需平衡至室温再使用。

## 【应用程序】

1. High-bind plate (EBS002-C01): 高结合96孔酶标板, 用于固相吸附包被液中的样品。
2. Coating buffer (EBS002-C02): 包被缓冲液, 用于稀释包被样品。
3. 10xWashing Buffer (EBS002-C03): 10x洗液, 用于洗涤酶标板, 使用前需将10xWashing Buffer用纯化水稀释至1xWashing Buffer(例如: 60 mL 10xWashing Buffer + 540 mL纯化水)。
4. Blocking buffer (EBS002-C04): 封闭缓冲液, 用于封闭酶标板。将Blocking buffer用1xWashing Buffer稀释4倍可作为Sample buffer样本稀释液(例如: 1mL Blocking buffer + 3 mL 1xWashing Buffer)。
5. Substrate solution (EBS002-C05): 底物溶液, 用于显色。
6. Stop Solution (EBS002-C06): 终止溶液, 用于终止实验。

## 【典型数据】

### 1. 包被:

用 Coating buffer (EBS002-C02)将重构后的 Human TNF- $\alpha$  Capture Antibody(ACROBiosystems Cat.No.CRS-D002, CRD002-C01)稀释至 1.0  $\mu\text{g/mL}$ , 需现用现配。包被在 High-bind plate (EBS002-C01)上, 每孔加入 100  $\mu\text{L}$ , 贴上封板膜, 2-8 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 16 h 或过夜。

### 2. 洗板:

小心揭开封板膜, 弃去孔中液体, 每孔加入 300  $\mu\text{L}$  洗涤缓冲液(1xWashing Buffer), 浸泡 5-10 s, 共洗板 3 次。每次洗板需在吸水纸上轻轻拍干, 也可选择机洗。

### 3. 封闭:

每孔加入 300  $\mu\text{L}$  的 Blocking buffer (EBS002-C04), 室温孵育 2.0 h。

### 4. 洗板:

重复步骤 2 洗板。

### 5. 加样:

用 Sample buffer 对重构后的 Human TNF- $\alpha$  Standard(ACROBiosystems Cat.No.CRS-D002, CRD002-C02)进行稀释, 稀释范围为 4.89-312.5  $\text{pg/mL}$ 。每孔加入 100  $\mu\text{L}$  样品, 空白对照孔加入

100  $\mu$ L Sample buffer。

#### 6. 孵育:

用封板膜封板，室温孵育 1.0 h。

#### 7. 洗板:

重复步骤 2 洗板。

#### 8. 加 Human TNF- $\alpha$ Detection Antibody:

用 Sample buffer 将重构后的 Biotinylated-Human TNF- $\alpha$  Detection Antibody(ACROBiosystems Cat.No.CRS-D002, CRD002-C03)稀释至 0.5  $\mu$ g/mL，在对应板孔内加入 100  $\mu$ L，需现用现配。

#### 9. 孵育:

用封板膜封板，室温孵育 1.0 h。

#### 10. 洗板:

重复步骤 2 洗板。

#### 11. 加 Streptavidin-HRP:

用 Sample buffer 将 Streptavidin-HRP(ACROBiosystems Cat.No.CRS-D002, CRD002-C04)稀释 2000 倍，在对应板孔内加入 100  $\mu$ L，该工作液现用现配，避光保存。

#### 12. 孵育:

用封板膜封板，室温孵育 30 min。

#### 13. 洗板:

重复步骤 2 洗板。

#### 14. 显色:

每孔加入 100  $\mu$ L Substrate Solution(EBS002-C05)。用封板膜封板，需避光，室温孵育 20 min。

#### 15. 终止:

每孔加入 50  $\mu$ L Stop Solution(EBS002-C06)，轻轻震荡酶标板至混合均匀。

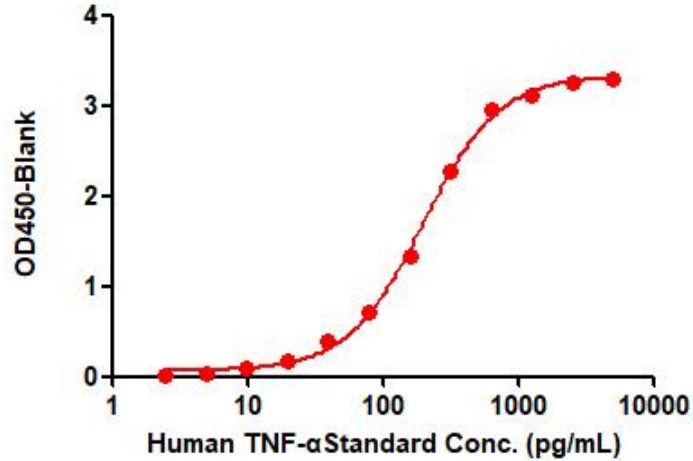
注: 孔中液体由蓝色完全变为黄色。

#### 16. 读数:

用酶标仪测定各孔在 450 nm 和 630 nm 波长的吸光值，请在终止后 10 分钟内读数。

注：各孔 OD<sub>450 nm</sub> 扣除 OD<sub>630 nm</sub> 读值可降低背景干扰。

### 17. 数据分析：



Immobilized Human TNF- $\alpha$  Capture Antibody (Cat.No.CRS-D002, CRD002-C01) at 1  $\mu$ g/mL (100  $\mu$ L/well) can bind Human TNF- $\alpha$  Standard, and then add Biotinylated-Human TNF- $\alpha$  Detection Antibody (Cat.No.CRS-D002, CRD002-C03) at 0.5  $\mu$ g/mL (100  $\mu$ L/well). Detection was performed using HRP-conjugated streptavidin with a linear range of 4.89-312.5 pg/mL.