ELISA FAQs

1. 페프로텍의 ELISA Development Kit에 포함된 Conjugate-HRP의 안전성은 어떤가요?
ABTS 키트에 포함된 Avidin-HRP는 2-8℃에서 1개월, -20℃에서 2년간 안정합니다.
TMB 키트에 포함된 Streptavidin-HRP는 2-8℃에서 최대 6개월간 안정합니다. 한 번이 초과되는 freeze/thaw과정은 하지마시기 바랍니다.

2. 키트에 대한 Cross Reactivity 정보를 어떻게 찾을 수 있나요?
페프로텍은 자체적으로 해당 ELISA Development Kits를 이용하여 cross reactivity 검사를 수행합니다.
이 검사로 현재까지 수집된 결과는 Data Sheet에 기록되어 있습니다.

3. ELISA protocol에 주말을 넘겨도 되는 과정이 있나요?
금요일에 capture 항체를 코팅한다면 4℃에 두고 주말을 보내셔도 됩니다. 그리고 월요일에 다시 시작하시면 됩니다.
참고: Incubation time을 변경 시에 다른 결과가 나올 수 있습니다.

4. 페프로텍의 EDKs는 모든 검체에 사용하기 적합한가요?
비록 가능한 검체의 모든 matrix를 검사를 해 보진 않았지만 serum, plasma, cell culture supernatant, urine과 saliva에 사용하는데 제한은 없습니다.

5. 반응 정지를 위해 Stop Solution이 필요한가요?
Avidin-HRP+ABTS를 사용할 때는 stop solution이 필요 없습니다. 대체로, zero standard 농도의 O.D. 값이 0.2 unit를 초과하지 않거나 highest standard 농도 값 O.D.가 1.2unit이 넘지 않으면 신뢰할 수 있는 standard curve를 얻을 수 있습니다.
만일 반응정지액을 원하시면, 반응 끝 1% sodium dodecyl-sulfate(SDS)를 사용하세요. 저희 실험실에서는 반응정지액을 사용하지 않습니다.
페프로텍의 모든 TMB 키트들은 stop solution으로 1M HCL Stop Solution을 권장합니다.

6. TMB EDKs에 권장되는 620nm 파장 외에 다른 파장을 사용할 수 있나요?
TMB EDKs의 보정파장으로 540, 570, 620, 650nm를 사용할 수 있습니다.

7. 페프로텍의 ABTS EDKs에 TMB를 사용해도 되나요?
페프로텍의 EDKs는 ABTS 사용에 최적화되어 있습니다. 그러므로 이 발색제를 사용하는 것이 최상입니다. 이 키트는 TMB와 결합해서 사용할 수 지₩ 만 약간의 수정이 필요합니다.
- Avidin-HRP가 제공된 키트는 TMB가 사용될 수 없습니다. Streptavidin을 반드시 별도로 구입하셔야 합니다.
- Streptavidin의 희석은 최적화가 필요합니다.
- Streptavidin+TMB를 사용할 때는 일반적으로 반응정지액이 필요합니다. TMB 제조업체의 Data Sheet를 참조하세요.
- TMB 반응시간은 반응정지액을 첨가하기 전에 최적화가 필요합니다.
- 추천된 Plate를 사용하실 때 보정파장 620nm와 함께 450nm에서 측정하시기 바랍니다.

8. EDK성분에 D-mannitol을 첨가하는 이유는 무엇인가요?
단백질/항체를 볼 수 있게 D-mannitol를 첨가합니다. 이것으로 ELISA 결과가 달라지지 않습니다.

9. Standard Curve로 EDK Data Sheet에 있는 Curve를 사용해도 되나요?
각 ELISA Plate별로 각각 standard curve를 반드시 도출해야 합니다. 바꾸어 말하자면, 한 plate에서 얻은 curve를 다른 plate에 사용할 수 없습니다. 저희가 제공한 Data Sheet에 있는 curve는 저희 실험실에서 얻어진 것으로, 단지 데모용입니다.

10. 페프로텍은 어떻게 Standard Curve를 생성하나요?
페프로텍 실험실에서 ELISA를 할 때 Molecular Devices® Plate Reader와 SOFTMax® PRO Software를 사용합니다. 이 프로그램은 측정된 값을 사용하여 4-Parameter Curve를 생성시킵니다. 아래에 프로그램에서 사용되는 공식이 있습니다.

$$y = \frac{A - D}{1 + \left(\frac{x}{C}\right)^{B}} + D$$

x = concentration (pg/ml)
y = O.D. (405nm – 650nm)
A, B, C, & D correspond to the 4 parameters.*
* Parameter에 관한 자세한 정보는 [주]페프로텍코리아로 연락 바랍니다.

Copyright PeproTech, Inc.