

## ELISA—常见问题解答

### 1. PeproTech ELISA试剂盒中所含的HRP(辣根过氧化物酶)偶联物试剂的稳定性如何?

ABTS ELISA试剂盒中的Avidin-HRP在2-8°C最多保存一个月，在-20°C最长可保存2年，此时建议分装冻存，以避免反复冻融。TMB ELISA试剂盒中的Streptavidin-HRP在2-8°C中可保存半年以上。

### 2. 我如何知道某个试剂盒的交叉反应信息?

PeproTech在实验室内自行测试了其ELISA试剂盒的交叉反应性，您可在试剂盒的说明书中查看测试结果。

### 3. ELISA实验过程中如果想周末停一下怎么办?

可以在星期五用包被抗体将板包好，然后放在4°C保存，下周一再继续实验。

*请注意：抗体包被时间的改变可能会引起板间结果的差异。*

### 4. PeproTech的EDK是否适用于所有类型的标本?

虽然PeproTech没有用其试剂盒对每种标本进行测试，但这些试剂盒应该适用于(但不仅限于)以下标本：血清、血浆、细胞培养上清液、尿液和唾液。

### 5. 显色反应需要终止吗?

Avidin-HRP和底物ABTS的显色反应是不需要终止的。当标准品的零孔OD值小于0.2，或最高浓度孔OD值小于1.2时，通常可以获得可靠的标准曲线。如要终止显色反应，可以用1% SDS (十二烷基磺酸钠)作为终止液。虽然资料显示SDS是ABTS的最适终止液，但PeproTech并未在实验室中使用终止液。

对于PeproTech所有的TMB试剂盒，推荐使用终止液(1M HCl)。

### 6. 对于TMB EDK试剂盒，除620nm的校正波长以外，还可用哪些波长进行校正?

TMB试剂盒可以用540，570，620或650nm等校正波长。

### 7. PeproTech的ABTS EDK可以用TMB作为底物吗?

PeproTech的ABTS EDK是用ABTS进行优化的，因此最好使用ABTS作为底物。这些试剂盒也可与TMB配合使用，但需要做一些调整：

- 试剂盒中的Avidin-HRP不能与TMB配伍，必须另购链霉亲合素-HRP。
- 链霉亲合素-HRP的工作浓度需要优化。
- 使用链霉亲合素-HRP和TMB时，通常需用终止液，请按照TMB的厂家说明书操作。
- 加终止液前，TMB的反应时间需要优化。
- 请使用推荐的酶标板，并在450nm读取吸光值，校正波长为650nm。

### 8. EDK的组分中为什么要添加D-甘露醇?

在EDK的组分中加入D-甘露醇的目的是使蛋白/抗体可见，这不会影响ELISA的检测结果。

#### 9. 是否可以将EDK说明书中的曲线作为我的标准曲线?

每块ELISA板必须单独做标准曲线，也就是说，一块板的标准曲线不能用于另一块板。PeperoTech的EDK说明书中提供的标准曲线是在自己的实验室中做出来的，仅可用作示例。

#### 10. PeperoTech的标准曲线是怎样生成的?

PeperoTech在实验室中用Molecular Devices<sup>®</sup>公司的酶标仪读板，然后用SOFTmax<sup>®</sup> PRO软件进行结果分析，该软件能将获取的数据进行四参数曲线拟合，公式如下：

四参数曲线拟合(4-P Fit):

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

x: 浓度(pg/ml)

y: OD值(450nm – 650nm)

A, B, C, D对应于标准曲线的四个参数\*。

\*想了解参数的详细信息，请与我们的质量保证(QA)部门联系。