

ヒト活性型 IL-18 ELISA 測定キット Ver.2 取扱・操作説明書

< 試薬構成 >

冷蔵輸送 → 冷蔵保存 (4℃) 凍らさないでください!

- ・ 抗体固相プレート 96 well : 8 well × 12 strip
- ・ 反応用緩衝液 40 mL
- ・ 洗浄液 (10 X) 30 mL
- ・ 酵素基質溶液 12 mL
- ・ 反応停止液 12 mL
- ・ プレートシール 2 枚

冷凍輸送 → 冷凍保存 (-80℃)

- ・ 標準原液 50 μL (conc. 100 pg/μL) (2本)
ヒト全長 IL-18 を Caspase-4 切断したヒト活性型 IL-18
- ・ 酵素標識抗体原液 25 μL

< 操作方法 >

■ 試薬の調製

1. 標準液の調製 (2重測定をおこなう場合)

- 1.1 反応用緩衝液 475 μL に標準原液を 25 μL を加え、2500 pg/500 μL (5000 pg/mL) 溶液を調製する。
- 1.2 これを 250 μL とり、反応用緩衝液 250 μL と混ぜて 2500 pg/mL 溶液を調製する。
- 1.3 同様の操作を繰り返して、1250、625、313、156、78 pg/mL 溶液を調製する。
- 1.4 0 pg/mL としして反応用緩衝液を用いる。

2. 検体サンプルの調製

血清は反応用緩衝液で 10 倍希釈して使用する。

Duplicate で行う場合、25 μL の血清 (*56℃ 30 min で非働化したもの) と 225 μL の反応用緩衝液を混ぜて調製し、使用する。

3. 洗浄液の調製

洗浄液 (10 X) は冷蔵で保存していると沈殿物が出る場合があります。
室温に戻してから、蒸留水を加えてください。

1 枚のプレートを一度に使用する場合、300 mL 入る適当なボトルに
蒸留水 270 mL を入れ、洗浄液 (10 X) 30 mL すべてを混ぜて、洗
浄液を調整する。

4. 酵素標識抗体液の調製

必要ウェル数に応じた必要量を計算する。洗浄液を用いて、酵素標識
抗体原液を 500 倍希釈し使用する。

■ 測定方法

1. 抗体固相プレートの必要数をアルミ袋より取り出す。(標準液は 2 重測定を推奨。)
2. 標準液 (0~5000 pg/mL) 及び 10 倍希釈した検体サンプルを 100 μ L ずつウェルに添加する。
3. プレートシールを貼り、25°C で 1 時間反応させる。
4. デカントなどで標準液や検体サンプル溶液を除去したのち、洗浄液 300 μ L を各ウェルにいれて洗浄する。この操作を 3 回繰り返す。
5. ウェルに残った洗浄液を完全に除去したのち (ペーパータオルの上で軽くたたく)、酵素標識抗体液を 100 μ L ずつ添加する。
6. プレートシールを貼り、25°C で 1 時間反応させる。
7. 4 の操作を繰り返す。
8. 酵素基質溶液を 100 μ L ずつウェルに入れる。
9. アルミホイルなどで包んで遮光し、25°C で 30 分反応させる。
10. 反応停止液を 100 μ L ずつウェルに入れる。
11. マイクロプレートリーダーで 450 nm/620 nm で吸光度を測定する。
12. 標準液の吸光度から検量線を作成し、検体サンプルの吸光度からサンプル濃度を算出する。