

Human Inflammatory 12-Plex Assay Kit

【产品货号】

FC11201

【靶标信息】

检测项目	缩写
白细胞介素1	IL-1 β
白细胞介素2	IL-2
白细胞介素4	IL-4
白细胞介素5	IL-5
白细胞介素6	IL-6
白细胞介素8	IL-8
白细胞介素10	IL-10
白细胞介素12p70	IL-12p70
白细胞介素17A	IL-17A
干扰素 α	IFN- α
干扰素 γ	IFN- γ
肿瘤坏死因子 α	TNF- α

【包装规格】

48T/盒 (或96T/盒)

【预期用途】

本试剂盒用于体外定量检测人血清或血浆样本中 IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12p70、IL-17A、TNF- α 、IFN- α 、IFN- γ 的含量。

实验操作人员应接受过流式细胞仪检测的专业培训, 具备相关的实验操作资格, 实验室应具备合理的生物安全防护设施及防护程序。

【检验原理】

本试剂盒利用液相芯片与双抗夹心相结合的原理。采用两种不同尺寸 (4 μ m和5 μ m)、十二种不同荧光强度的微球群上分别包被 IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12p70、IL-17A、TNF- α 、IFN- α 、IFN- γ 特异性抗体 (捕获微球), 可与样本中对应抗原蛋白特异性结合, 加入生物素标记的检测抗体, 形成抗体捕获微球-细胞因子-检测抗体的免疫复合物; 洗涤去除多余的未结合抗体后再加入链霉亲和素-藻红蛋白偶联物 (SA-PE), 在流式细胞仪上检测相应荧光。通过免疫复合物的荧光强度得到待测样本IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12p70、IL-17A、TNF- α 、IFN- α 、IFN- γ 的含量。

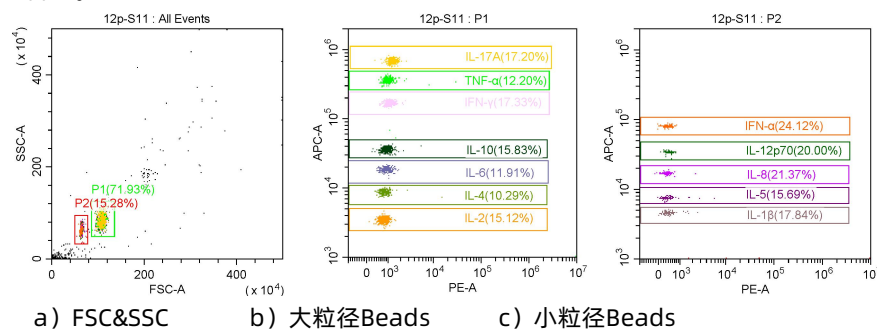


图1 靶标及Beads分布

【主要组成成份】

试剂组成	主要组分	规格	
		48T/盒	96T/盒
捕获微球	聚苯乙烯微球包被的人IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12p70、IL-17A、TNF- α 、IFN- α 、IFN- γ 抗体	1.2mL/瓶 ×1瓶	2.4mL/瓶 ×1瓶
检测抗体	生物素标记的人IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12p70、IL-17A、TNF- α 、IFN- α 、IFN- γ 抗体	1.2mL/瓶 ×1瓶	2.4mL/瓶 ×1瓶
校准品	人IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12p70、IL-17A、TNF- α 、IFN- α 、IFN- γ 重组蛋白，为冻干粉或冻干球	1瓶	1瓶
SA-PE	链霉亲和素-藻红蛋白偶联物	2.4mL/瓶 ×1瓶	4.8mL/瓶 ×1瓶
分析稀释液	磷酸盐缓冲液（PBS）、牛血清白蛋白（BSA）、防腐剂等	12mL/瓶 ×1瓶	12mL/瓶 ×1瓶
洗涤缓冲液（10×）	磷酸盐缓冲液（PBS）、吐温-20（Tween-20）、防腐剂等	19.68mL/瓶 ×1瓶	39.36mL/瓶 ×1瓶

注：1）校准品为**选配**，根据实验需要酌情购买；

2）不同批号的试剂请勿混用，并请在有效期范围内使用；

3）本产品需要但不提供的材料包括流式细胞管、1.5mL EP管、纯化水。

【储存条件及有效期】

1.储存条件：试剂盒保存在 2-8℃，应避光保存，**禁止冷冻**；

2.有效期：试剂盒有效期为 12 个月；

3.试剂开封后可直接使用，开封后储存在 2-8℃可稳定 1 个月；

4.运输条件为2-8℃；

5.生产日期和失效日期见试剂盒外标签。

【适用仪器】

流式细胞仪：一般两激光六通道流式可满足仪器的使用要求，流式检测时所用通道为APC及PE。

【样本要求】

1.标本：血清或血浆

2.样本采集：

血清：静脉血样本用标准试管或有分离胶的试管收集，室温自然凝固或2000~4000rpm离心20min，取分离出的血清0.5mL送检；

血浆：静脉血样本用EDTA-K2抗凝管收集，2000~4000rpm离心20min，取离出的血浆0.5mL 送检。

3.保存：待测样本需在抽血后 4h内按上述处理并检测，如无法在4h内检测，需按上述处理完毕后2-8℃放置不超过 24h；-20℃可保存3个月。样本反复冻融不超过3次。

备注：其它抗凝管收集血浆样本，理论上可行，需客户自行验证。

【检验方法】

1. 校曲溶液的制备

将校准品加入250μL分析稀释液溶解（按照每个靶标0.45ng/管为例，实际以各靶标标识含量计算），立即转移至1.5mL EP管中，即为最高浓度管，标记为A1。取8个1.5mL EP管，分别标记为A2~A9，每管加入100μL分析稀释液，从A1管中取50μL，加入到A2管中，混匀，再从A2管中取50μL至A3管，混匀，依次完成梯度稀释。如下表中所示：

管号	梯度稀释	分析稀释液 体积 (μL)	加入内容物来 源及体积 (μL)	最终浓度 (pg/mL)	剩余体积 (μL)
A1	TOP	/	校准品瓶250μL	1800.00	200μL
A2	1:3	100μL	A1号管 50μL	600.00	100μL
A3	1:9	100μL	A2号管 50μL	200.00	100μL
A4	1:27	100μL	A3号管 50μL	66.67	100μL
A5	1:81	100μL	A4号管 50μL	22.22	100μL
A6	1:243	100μL	A5号管 50μL	7.41	100μL
A7	1:729	100μL	A6号管 50μL	2.47	100μL
A8	1:2187	100μL	A7号管 50μL	0.82	150μL
A9	/	100μL	/	0	100μL

2. 1×洗涤缓冲液配制

根据实验管数进行配制，按每管1mL计算，将洗涤缓冲液（10×）用去离子水或纯化水按1:9稀释为1×洗涤缓冲液，1×洗涤缓冲液应现配现用。

3. 实验操作步骤

- ① 取N个流式细胞管（N=标曲数量9+样本数量n），分别为S1、S2、.....、S9，S1~S9分别加入对应A1~A9稀释度标准品25μL，其它样本管中每管加入25μL待测样本；
- ② 每管加25μL捕获微球，混匀，室温避光孵育1h；
- ③ 每管加25μL 检测抗体，混匀，室温避光孵育1h；
- ④ 每管加500μL 1×洗涤缓冲液，300g离心5min，弃上清，将管口轻轻倒扣在吸水纸上，吸干管口残留的液体；
- ⑤ 每管加50μL SA-PE，混匀，室温避光孵育30min；
- ⑥ 每管加500μL 1×洗涤缓冲液，300g离心5min，弃上清，重复两次；
- ⑦ 根据流式细胞仪的上样量，每管加入200μL 1×洗涤缓冲液，上机检测前涡旋10~20s。

【检验结果的解释】

1. 若待测样本 IL-1β、IL-2、IL-4、IL-5、IL-10、IL-12p70、IL-17、TNF-α和IFN-γ的测定在 0.82~1800.00pg/mL，IL-6、IL-8和IFN-α的测定在2.47~1800.00pg/mL测定结果有效，可直接报告测定结果；若检测结果大于1800.00pg/mL，应用分析稀释液将样本稀释适当的倍数（建议1:4倍稀释）后重新检测。

2. 若待测样本 IL-1β、IL-2、IL-4、IL-5、IL-10、IL-12p70、IL-17A、TNF-α和IFN-γ的检测结果 < 0.82pg/mL或IL-6、IL-8和IFN-α的检测结果 < 2.47pg/mL或未检测到，则IL-1β、IL-2、IL-4、IL-5、IL-10、IL-12p70、IL-17A、TNF-α和IFN-γ直接报告为 < 0.82pg/mL，IL-6、IL-8和 IFN-α则报告为 < 2.47pg/mL。

【检验方法的局限性】

1. 本试剂盒的检测结果仅供科研使用，对患者的临床诊治应结合其症状/体征、病史、其他实验室检查及治疗反应等情况综合考虑，**高脂、黄疸、溶血**等血清样本不适用于检测；
2. 不当的样本采集、转运、储存、处理过程以及仪器的设置均有可能导致错误的检测结果；
3. 该试剂检测结果不得作为患者病情评价的唯一指标。

【产品性能指标】

1. 准确度: IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12p70、IL-17A、TNF- α 、IFN- α 和IFN- γ 的回收率在[85% , 115%]范围内。
2. 线性: IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-10、IL-12p70、IL-17A、TNF- α 和IFN- γ 线性范围为0.82 ~ 1800.00pg/mL; IL-6、IL-8和IFN- α 的线性范围为2.47 ~ 1800.00pg/mL。
3. 空白限: IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-10、IL-12p70、IL-17A、TNF- α 和IFN- γ 空白限均不高于0.82pg/mL; IL-6、IL-8和IFN- α 空白限均不高于2.47pg/mL。
4. 精密度: 批内精密度变异系数不大于10%, 批间精密度变异系数不大于15%。
5. 高剂量钩状效应: IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12p70、IL-17A、TNF- α 、IFN- α 和IFN- γ 至100000pg/mL未见。

【注意事项】

1. 本试剂盒仅用于科学研究检测;
2. 样本、质控/校准品、实验废弃物等材料应当作为潜在传染物进行处理, 并且采用符合法规的预防措施对其处理;
3. 仪器需经正确校准通过后方可使用。未经校准或荧光渗漏未进行合理补偿以及检测区域(设门)未精确定位, 则可能产生错误的检测结果;
4. 本品含防腐剂及荧光素, 切勿直接接触皮肤或沾染食物, 操作时务必戴手套操作;
5. 推荐用聚丙烯管制备样本, 勿用玻璃管或器皿;
6. 在重悬校准品成溶液或进行校准品样品稀释时, 不可采用振动混匀及剧烈吹打的方式处理校准品样品, 只需轻轻吹打样品数次即可;
7. 校准品在配成溶液后, 请在4h内使用;
8. 在使用之前, 捕获微球混合液必须充分的振动混合;
9. 检测标本加样完毕后为充分孵育, 必须在孵育前对所有检测管进行振动混匀;
10. 为确保荧光检测质量, 凡涉及检测抗体的相关步骤都需避光操作;
11. 不同批号的试剂请勿混用, 并在有效期范围内使用;
12. 本试剂盒注意保存温度, 不能冷冻。