



Human CCL3/MIP-1 α ELISA Kit 检测试剂盒（酶联免疫吸附法）说明书

【货号】EK161

【包装规格】48T、96T

【预期用途】定量检测血清、血浆和细胞培养上清中的人趋化因子配体3(CCL3)浓度。

【背景介绍】

趋化因子配体3(CCL3)，又名巨噬细胞炎性蛋白1 α (MIP-1 α)，是CC趋化因子家族中的一种细胞因子，参与多形核白细胞招募和活化中的急性炎症状态。CCL3基因位于人类17号染色体上，其cDNAs编码92个氨基酸残基前体蛋白，该前体蛋白含有一段22个氨基酸残基信号肽，裂解该前体蛋白可产生分泌性的成熟蛋白。和其它趋化因子一样，CCL3是单核细胞趋化物。另外，有报道认为CCL3对T淋巴细胞、NK细胞、细胞毒性T细胞、B细胞、嗜碱性粒细胞和嗜酸性粒细胞有不同的趋化和促粘附作用。

CCL3已被确定为是一种干细胞抑制剂(SCI)，可抑制造血祖细胞在体外和体内的增殖。CCL3、CCL4和RANTES被认为是由CD8⁺T细胞产生的重要的HIV抑制因子。

【检测原理】

响组分的使用。标准品稀释液中可能会观察到蛋白沉淀，该沉淀不影响使用，可以忽略，或者可通过6,000×g离心5分钟去除沉淀。

【检测方法】

- 1) 将不需要的板条拆卸下来，放回装有干燥剂的铝箔袋，重新封好封口。在任何情况下，避免接触微孔板的内表面。
- 2) 每个酶标板上待用的孔加入300μl 1×洗液静置浸泡30秒。弃掉洗液之后，在吸水纸上将微孔板拍干。洗板完成之后，请立即使用微孔板，不要让微孔板干燥。
- 3) 加标准品：标准品孔加入100μl 2倍比稀释的标准品。空白孔加入100μl标准品稀释液(血清/血浆样本)或培养基(细胞培养上清样本)。
- 4) 加样本：**血清/血浆**：样本孔加入80μl 1×检测缓冲液和20μl样本。**细胞培养上清**：样本孔加入100μl细胞培养上清。
- 5) 加检测抗体：每个待测孔加入50μl“检测抗体工作液”(参见试剂准备)。
- 6) 应保证标准品、样本和检测抗体的加样在15分钟内完成，是连续的，不能间断。
- 7) 孵育：使用封板膜封板。100-300转/分钟振荡（保证每孔溶液不撒出且能充分混匀即可），室温（25℃±3℃）孵育2小时。**孵育时均应封好封板膜。**
- 8) 洗涤：弃掉液体，每孔加入300μl洗液洗板，洗涤6次。每次洗板，在吸水纸上拍干。为获得理想的实验性能，必须彻底移除残留液体。
- 9) 加酶：每孔加入100μl“链霉亲和素工作液”(参见试剂准备)。
- 10) 孵育：使用新的封板膜封板。100-300转/分钟振荡（保证每孔溶液不撒出且能充分混匀即可），室温（25℃±3℃）孵育45分钟。
- 11) 重复步骤8）。
- 12) 加底物显色：每孔加入100μl显色底物，避光，室温（25℃±3℃）孵育5-30分钟。
- 13) 加终止液：每孔加入100μl终止液。颜色由蓝色变为黄色。如果颜色呈现绿色或者颜色的变化明显不均匀，说明终止液与显色底物没有充分混匀，请轻轻叩击板框，充分混匀。**终止液的添加顺序应与显色底物的添加顺序相同。**
- 14) 检测读数：在30分钟