



小鼠总免疫球蛋白G(IgG) 定量 分析酶联免疫检测试剂盒

使用前请仔细阅读说明书并检查试剂组分是否完整，本试剂盒仅供科研使用。如有产品包装破损或质量投诉，请在收到货一个月之内联系我们。

1. IgG 简介

免疫球蛋白G(IgG)主要由脾、淋巴结中的浆细胞合成和分泌，以单体形式存在。在个体发育过程中机体在出生后第3个月开始合成IgG，3~5岁接近成年人水平。IgG是血清中主要的抗体成分，约占血清总Ig的75%。

免疫球蛋白G在免疫应答中起着激活补体，中和多种毒素的作用，是机体抗感染的主要物质。

IgG是四链单体，根据IgG分子中 γ 链抗原性差异，人IgG有4个亚类：IgG1、IgG2、IgG3和IgG4（小鼠4个亚类是IgG1、IgG2a、IgG2b和IgG3）。不同IgG亚类的生物学活性有所差异。IgG的半衰期相对较长，约为20~30天。

2. 检测原理

本试剂盒采用双抗体夹心ELISA法检测小鼠来源样本中的总IgG浓度。IgG捕获抗体已预包被于酶标板上，当加入标本或参考品时，其中的IgG会与捕获抗体结合，其它游离的成分通过洗涤的过程被除去。当加入与HRP偶连的抗IgG抗体后，抗小鼠IgG抗体与IgG接合，形成夹心的免疫复合物，其它游离的成分通过洗涤的过程被除去。最后加入显色剂，若样本中存在IgG将会形成免疫复合物，辣根过氧化物酶会催化无色的显色剂氧化成蓝色物质，在加入终止液后呈黄色。通过酶标仪检测，读其450nm处的OD值，IgG浓度与OD450值之间呈正比，通过参考品绘制标准曲线，对照未知样本中OD值，即可算出标本中IgG浓度。

3. 试剂盒组成

- 3.1、预包被板12条/6条(96T/48T)；
- 3.2、标准品2瓶/1瓶(96T/48T)，冻干；
- 3.3、20×标准品稀释液，1瓶10ml/5ml(96T/48T)；
标准曲线中0浓度标准品以标准品稀释液直接加入。
- 3.4、即用型抗IgG抗体的HRP酶结合物1瓶，5ml/2.5ml(96T/48T)
- 3.5、TMB底物溶液，1瓶10ml/5ml(96T/48T)；
- 3.6、中止液，1瓶5ml；
- 3.7、浓缩洗涤液(20×)，1瓶30ml/15ml(96T/48T)；
- 3.8、封板纸3张/2张(96T/48T)；
- 3.9、说明书一份；

4. 检测中需要但没有提供而需要自备的材料：

- 4.1、振荡混匀器。
- 4.2、可控温水浴箱 37℃。
- 4.3、ELISA酶标仪(450nm)。
- 4.4、移液枪头等

5. 注意事项

- 5.1、未开封的试剂应保存在2-8℃。
包装袋袋开封后，应立即封紧。开封后的包被微孔板储存在2-8℃下可以稳定6个星期。
- 5.2、所有试剂和所需的微孔板条在使用前应平衡至室温。



5.3、使用前将浓缩洗涤液用蒸馏水按1:20稀释(例如:10ml浓缩洗涤液应用蒸馏水稀释至终体积200ml)。

5.4、稀释后的洗涤液在2-8℃下可以保存4个星期。

5.5、样本收集

血清和EDTA处理的血浆样本。避免使用明显溶血、黄疸、脂血样本。使用的血清和EDTA血浆样本,按常规方法制备。样品在2-8℃下保存不超过24小时。如果样品需要长期存放(3个月以上),应冻存在-20℃。使用过程中应避免反复冻融。

6. 检测过程

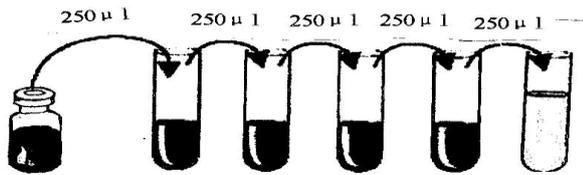
所有的试剂和样本在使用前应平衡至室温并摇匀(摇匀过程应保证无泡沫产生)。一旦检测开始,应连续操作,不中断。开始分析前,推荐准备好所有试剂,打开瓶盖,将所需微孔板条固定等等,以防止实验中出现不必要的时间拖延。使用每种试剂、标准品或样品时,都应更换一次性移液枪头,以免交叉污染。

7. 检测步骤

7.1、将所需微孔板条在微孔架上固定,按1份标准品稀释液加19份超纯水或去离子水提前稀释成标准品稀释液的工作原理;

7.2、移取10 μ l稀释好的标准品以及样本至相应微孔中,样本需稀释100000倍以上。

提前稀释标准品:加入标准品稀释液100 μ l至冻干标准品瓶中使IgG终浓度达到100ng/ml,请严格控制在25~28℃,静置10~15分钟后轻轻混悬(建议抽吸几次)待彻底溶解,用标准品稀释液倍比梯度稀释后依次加入检测孔中。(标准曲线取七个点,最高浓度为100ng/ml,标准品稀释液直接加入作为0浓度。)



7.3、每孔加90 μ l标准品稀释液,25~28℃孵育120分钟;

7.4、用洗涤液将微孔洗涤5次(推荐使用洗板机)。

重要提示:

洗涤液加入板孔中,需浸泡10秒,最后一次必须在干净的吸水纸上用力拍打微孔,除去残留洗涤液。洗涤操作的正确与否将影响整个实验分析的灵敏度和精密度。

7.5、每孔加50 μ lHRP耦连的抗IgG抗体,25~28℃孵育60分钟;

7.6、用洗涤液将微孔洗涤5次(推荐使用洗板机)。

7.7、每孔加入100 μ l底物溶液。室温避光孵育15分钟(25-28℃)。

7.8、每孔加入50 μ l终止液,终止酶反应。并在450nm处测定OD值(参考波长600-650nm)。读取OD值最好在10分钟内完成。

8. 结果计算

在方格坐标纸上,以标准品的浓度作为横坐标(对数刻度),对应的OD值作为纵坐标(线性刻度)。利用连接的标准曲线可读出样本的OD值对应的浓度值。试剂浓度需乘以稀释倍数。

任何样品浓度如果高于最高标准品浓度,样品应用标准品稀释液作适当稀释后重新测量分析。所得结果乘以稀释倍数后即样品实际浓度。

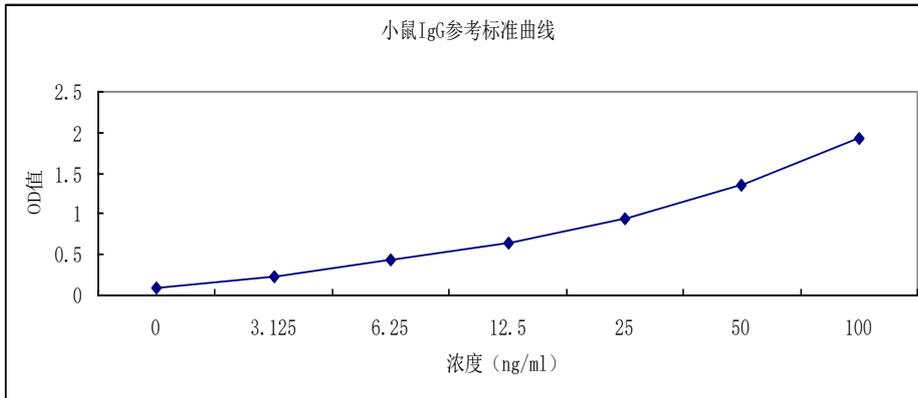
9. 参考数据及曲线



典型参考数据

浓度 (ng/ml)	典型 OD 值 1	典型 OD 值 2	OD 平均值
0	0.0892	0.0844	0.0868
3.125	0.2437	0.2161	0.2299
6.25	0.4529	0.4127	0.4328
12.5	0.6826	0.6214	0.652
25	0.9627	0.9295	0.9461
50	1.3792	1.3354	1.3573
100	1.9563	1.9107	1.9335

小鼠 IgG 参考标准曲线



10. 灵敏度、特异性和重复性

1. 灵敏度: 多次重复结果表明, 最小检出量为 1.24ng/ml。
2. 特异性: 本试剂盒采用特异性抗体识别小鼠 IgG, 包括 IgG1、IgG2a、IgG2b 和 IgG3, 检测值为总的 IgG 浓度。
3. 重复性: 板内, 板间变异系数均<10%.