小鼠单克隆抗体Ig类/亚类/亚型鉴定ELISA试剂盒

双抗体夹心法 • 高特异性 • 鉴定IgG1/IgG2a/IgG2b/IgG3/IgM/IgA及Kappa/Lambda轻链 Mouse Monoclonal Antibody Isotyping Kit (incl. κ/λ)

您好！感谢您选择了我们的产品，请您在读完此说明书后再开始您的实验，这对您顺利完成实验很有帮助。

一、试剂原理

本试剂盒利用双抗体夹心法鉴定小鼠淋巴细胞杂交瘤培养上清中单克隆抗体或特异亲和纯化单克隆抗体的类和亚类（可区分出IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3、IgM、IgA以及Kappa、Lambda轻链）。采用小鼠抗体共有位点的二抗包被微孔板，与加入的培养上清中的小鼠抗体结合，再加入HRP标记的抗小鼠各类、亚类、亚型的抗体来分别反应，随后用TMB底物系统显色并用稀硫酸终止，再通过酶标仪检测吸光度来判断被测单克隆抗体的类或亚类/亚型。本试剂盒具有极高的分辨率，是您鉴定小鼠单克隆抗体类、亚类、亚型的可靠工具。

二、试剂组份

包被有抗小鼠抗体共有位点二抗的酶标板、HRP标记的抗小鼠各亚类/亚型二抗（8种：抗IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3、IgM、IgA、Kappa、Lambda）、标本稀释液、浓缩清洗液（20×）、显色剂A、显色剂B、终止液、阳性对照、阴性对照。具体规格详见试剂盒内标签。

三、使用范围

用于培养上清中小鼠单克隆抗体Ig类、亚类、亚型（轻链）的鉴定以及相关内容的研究。

四、使用方法

1. **恢复室温与洗液配制：** 将试剂盒恢复室温（约30分钟），用纯水将浓缩清洗液稀释为工作浓度（1份浓缩清洗液 + 19份纯水）。
2. **准备酶标板：** 取出所需酶标板条（每个标本需8孔，阳性对照8孔，阴性对照8孔），剩余板条放回自封袋并加入干燥剂密封保存。
3. **加样与温育：** 标本检测孔每孔先加入标本稀释液50μL，再每孔加入50μL细胞培养上清（或特异亲和纯化抗体），每标本共8孔。阳性对照和阴性对照各8孔每孔加100μL（不加标本稀释液）。贴封板膜，37℃温育30分钟。
4. **洗板与加酶标二抗：** 弃去孔内液体，手工或机洗5遍后拍干。在每个标本的8孔中分别加入8种酶标二抗各100μL（分别对应IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3、IgM、IgA、Kappa、Lambda），阳性、阴性对照同样方式加样。做好标记。贴新封板膜，37℃温育30分钟。
5. **洗板与显色：** 吸弃液体，洗板5遍后拍干。每孔加显色剂A和显色剂B各50μL，换新封板膜，避光37℃显色20分钟。
6. **结果判定：** 肉眼观察显色蓝色孔对应的酶标二抗即可判定Ig类/亚类/亚型。也可每孔加终止液50μL终止反应，酶标仪450nm（参考630nm）双波长测定。阳性对照OD一般≥0.8，阴性对照≤0.15。阳性判

定标准：样品OD大于阴性OD+0.15（阴性OD低于0.05按0.05计）。高值孔对应酶标二抗即为类/亚类/亚型（其中Kappa或Lambda反映轻链类型）。

五、产品特点

高灵敏度、高特异性、结果容易判定，涵盖轻链亚型鉴定。

六、保存条件

建议避光保存在**4℃（或2～8℃）**，不开启保存效期1年。不正确存放或过于频繁开启使用可能使效期缩短。

七、注意事项

1. 虽然本试剂盒过期后很久还有使用价值，但还是请您在有效期内使用。
2. 检测腹水类单抗时要稀释到1/5万，虽然可以分辨但并不建议。此类样品成分复杂，有干扰结果的可能，此时可选择本公司货号6102的鉴定试剂或使用抗原包被板替换试剂盒内包被板（此时阳性对照不显色属正常）。
3. 手洗板子时一定要加满孔，停留10秒后弃尽、吸净；酶标二抗温育后洗板时务必将液体**吸出而非甩出**，并吸净（手工洗板关键）。
4. 一次没用完的板子要带干燥剂放自封袋封好，随盒存放。
5. 拿放板子时不要剧烈抖动，以免孔间交叉污染出现错误结果。
6. 本试剂一般不会出现两个阳性，但实际可能出现一个OD很高另一很低但仍判为阳性的情况，此时以OD高值孔为准。原因包括：A、培养细胞中“饲养细胞”残留；B、单抗本身亚类结构轻微变异；C、样品为非特异亲和纯化抗体或腹水；D、上清污染；E、实验粗放；F、加错试剂。

特别提示： 不具备ELISA基础知识和操作的人员不要完成此实验或类似实验，因为这可能会给您带来错误的结果和不必要的损失。实验中有疑问请联系我们技术团队 BIOABLAB@163.COM。

仅供科研使用 高特异性鉴定 双抗体夹心法 小鼠单抗亚型+轻链鉴定 κ / λ 轻链分型