



Data Sheet **IFN γ ELISPOT Assay 抗体对 / 试剂盒**

货号	品名	检测	Avidin-酶	用途	规格
EpDot001P-1	IFN γ ELISPOT 抗体对	人IFN γ	no	ELISPOT	96well
EpDot001P-4	IFN γ ELISPOT 抗体对	人IFN γ	no	ELISPOT	4x96well
EpDot001K-1	IFN γ ELISPOT 试剂盒*	人IFN γ	Streptavidin-AP	ELISPOT	96well
EpDot001K-4	IFN γ ELISPOT 试剂盒*	人IFN γ	Streptavidin-AP	ELISPOT	4x96well

* 含96 孔带膜板

ELISPOT标准操作程序

1. ELISPOT包被 (无菌操作)

每孔加入20 μ l的 70%乙醇预湿PVDF膜、甩干。用无菌PBS或RPMI1640洗涤去除乙醇。每孔加入100 μ l已稀释好的包被抗体(终浓度10 μ g/ml)到各实验孔。4 $^{\circ}$ C包被过夜或室温 (25C \pm -) 包被2小时。

2. 封闭 (无菌操作)

倾倒入包被液,用无菌1 \times PBS洗涤3次。最后一次,在灭菌的吸水纸上扣干。200 μ l/孔加入细胞培养液,室温孵育1小时。

3. 细胞培养 (无菌操作)

倾倒入封闭液,无须洗涤,直接加入准备好的细胞。(初次进行试验,应作刺激物浓度梯度、和 / 或细胞计数梯度预实验)

实验组孔加入细胞和刺激物,阳性对照组每孔加入10 μ l PHA (PHA终浓度1-4 μ g/ml),阴性对照组每孔只加细胞。37 $^{\circ}$ C二氧化碳培养箱中培养16-24h。

4. 检测

用PBS/T洗板3次。甩干,每孔加入1: 1000稀释好的生物素标记检测抗体100 μ l,室温孵育2h。

用PBS/T洗板3次。甩干,每孔加入1: 1000稀释好的酶标亲和素,室温 (25 $^{\circ}$ C \pm -) 孵育1h。

5. 显色

用PBS/T洗板3次,PBS洗板1次。拍干。加入50 μ l BCIP • NBT显色液。室温静置15-45min,注意避光。

6. 终止显色

自来水冲洗板子,室温干燥后在倒置显微镜下观察结果或使用自动酶联斑点图像分析仪进行分析。

ELISPOT完全试剂盒提供:

1. 包被抗体;预滴定,低内毒素,纯化抗体。
2. 生物素连接的检测抗体
3. 亲和素碱性磷酸酶
4. BCIP • NBT显色液
5. 96 孔 PVDF 膜 ELISPOT 板

ELISPOT完全试剂盒不提供:

6. 包被抗体用缓冲剂 (PBS)
7. 洗涤用缓冲剂 (1 x PBS, 0.05% Tween-20)
8. 细胞培养液 (RPMI1640+10%FBS)
9. 封闭液 (RPMI1640+10%FBS)

