

碧云天ELISA检测技术服务

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay by Beyotime



碧云天
Beyotime



碧云天网站



微信公众号

碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology

订购热线：400-168-3301或800-8283301

技术咨询：info@beyotime.com

技术服务：service@beyotime.com

网址：<http://www.beyotime.com>

碧云天ELISA检测技术服务

概述

- ELISA(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)即酶联免疫吸附剂测定，是继免疫荧光和放射免疫技术之后发展起来的一种免疫酶技术。此项技术自70年代初问世以来，发展十分迅速，目前已被广泛用于生物学和医学科学的许多领域。
- ELISA 是一种结合抗原、抗体特异性反应与酶对底物的高效催化作用的一种高敏感性的免疫学实验技术。

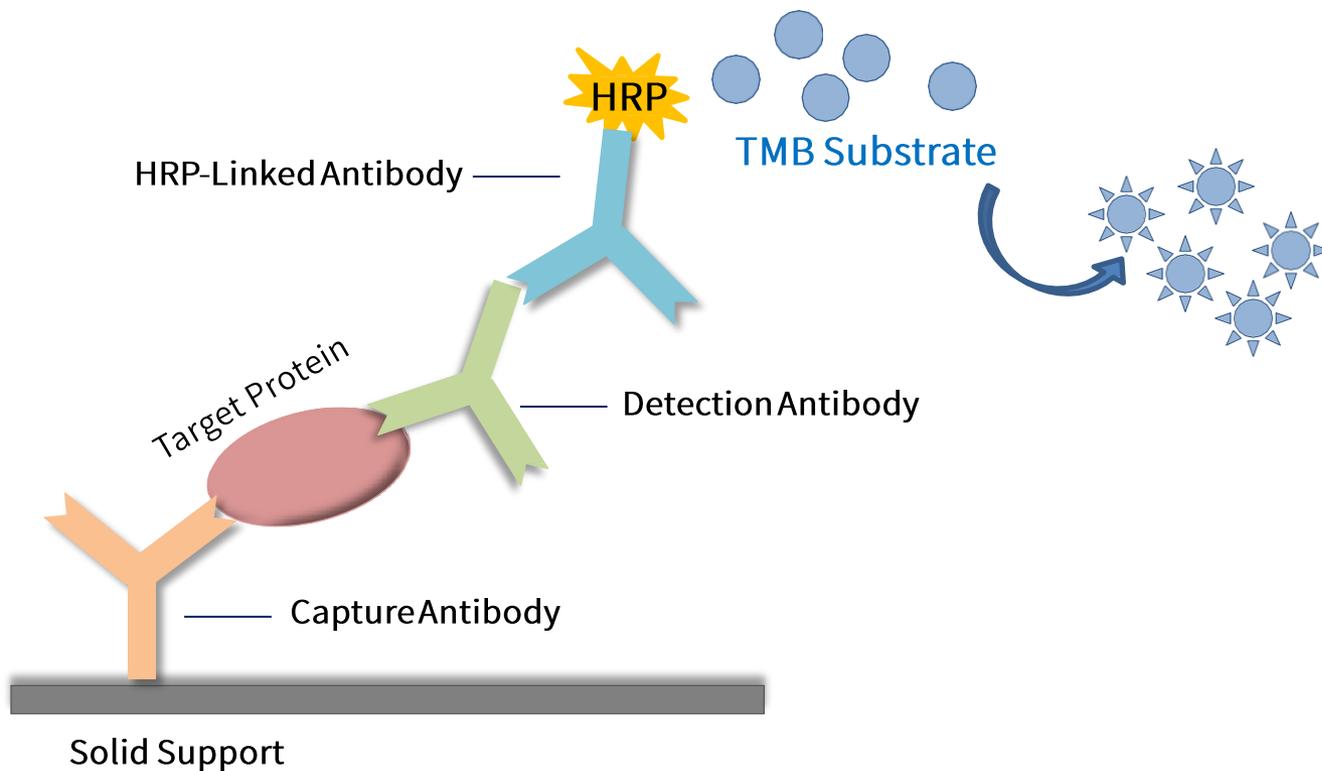
碧云天ELISA检测技术服务

原理

- ELISA的基础是抗原或抗体的固相化以及酶标记。结合在固相载体表面的抗原或抗体仍保持其免疫学活性，酶标记的抗原或抗体既保留其免疫学活性，又保留酶的活性。在测定时，受检标本(测定其中的抗体或抗原)与固相载体表面的抗原或抗体反应，洗涤使固相载体上形成的抗原抗体复合物与液体中的其他物质分开，再加入酶标记的抗原或抗体，通过反应使其结合在固相载体上。此时，固相上的酶含量与标本中受检物质的量呈一定的比例。接着加入底物，底物被酶催化成为有色产物，产物的量与标本中受检物质的量直接相关，故可根据呈色的深浅进行定性或定量分析。

碧云天ELISA检测技术服务

原理



碧云天ELISA检测技术服务基本原理图

碧云天ELISA检测技术服务

应用

ELISA的应用

- 免疫酶染色各种细胞内成分的定位
 - 研究抗酶抗体的合成
 - 检测微量的免疫反应
 - 定量检测体液中抗原或抗体成份
- 碧云天凭借多年的免疫学相关试剂盒研发经验，以高灵敏度、高特异性的ELISA试剂盒及相关产品为依托，为客户提供专业的ELISA技术服务。碧云天的技术服务人员拥有精湛的技术和丰富的经验，根据客户需要制定实验方案，高效、精确地完成ELISA检测，确保实验数据的准确性，同时提供专业的数据分析。

碧云天ELISA检测技术服务

碧云天的优势

- ◆ **金品质：** 碧云天凭借多年的生物试剂盒研发经验，提供高灵敏度、高特异性的ELISA检测试剂盒；
- ◆ **高质量：** 碧云天技术服务人员拥有丰富的操作经验和精湛的技术，严格操作，保证高效、精准地完成检测；
- ◆ **服务全：** 根据客户实验要求设计、制定实验方案，同时为客户提供专业的数据分析服务；
- ◆ **价格低：** 碧云天以最优惠的价格为客户提供最全面的服务，帮助客户有效节约科研经费；
- ◆ **时间短：** 碧云天拥有全套检测设备和专业实验平台，在最短的时间内为客户提供服务。

碧云天ELISA检测技术服务

分类

- ELISA可用于测定抗原，也可用于测定抗体，根据试剂的来源和标本的情况以及检测的具体条件，选择不同类型的检测方法，常用方法有：
 - ◆ 间接法
 - ✓ 传染病的诊断等。
 - ◆ 双抗体夹心法
 - ✓ 此法适用于检验各种蛋白质等大分子抗原，例如HBsAg、HBeAg、AFP等。
 - ◆ 抗原竞争法
 - ✓ 小分子激素、药物等ELISA测定多用此法。
 - ◆ 捕获法
 - ✓ 在临床检验中测定抗体IgM时多采用捕获包被法。

除了以上常见的4种检测方法外，还有直接法、捕获包被法、竞争法(测抗体)、ABS-ELISA法等其他方法。

碧云天ELISA检测技术服务

ELISA试剂

- ELISA检测中重要的试剂：免疫吸附剂、结合物和酶底物。
 - ◆ 已包被抗原或抗体的固相载体(免疫吸附剂)；
 - ◆ 酶标记的抗原或抗体(结合物)；
 - ◆ 酶的底物
 - ◆ 阴性对照品和阳性对照品，参考标准品；
 - ◆ 结合物及标本的稀释液；
 - ◆ 洗涤液；
 - ◆ 酶反应终止液

碧云天ELISA检测技术服务

ELISA试剂

➤ 固相载体

- ◆ 可作为 ELISA 载体的物质很多，最常用的是聚苯乙烯。聚苯乙烯具有较强的吸附蛋白质的性能，抗体或蛋白质抗原吸附其上后保留原来的免疫活性。聚苯乙烯为塑料，可制成各种形式。在 ELISA 测定过程中，它作为载体和容器，不参与化学反应。加之它的价格低廉，所以被普遍采用。
- ◆ ELISA 载体的形状主要有三种：小试管、小珠和微量反应板。
 - ✓ 最常用的载体为微量反应板，专用于 ELISA 测定的产品也称为 ELISA 板，国际通用的标准板形是 8×12 的 96 孔式。

碧云天ELISA检测技术服务

ELISA试剂

➤ 抗原和抗体

- ◆ 在 ELISA 检测过程中，抗原和抗体的敏感性以及特异性是决定实验是否成功的关键因素。要求所用抗原纯度高，抗体效价高、亲和力强。
- ✓ ELISA 所用抗原有三个来源：天然抗原、重组抗原和合成多肽抗原。
- ✓ 用于 ELISA 的抗体有多克隆抗体和单克隆抗体。

碧云天ELISA检测技术服务

ELISA试剂

➤ 免疫吸附剂

- ◆ 固相的抗原或抗体称为免疫吸附剂。
- ◆ 将抗原或抗体固相化的过程称为包被（coating）。由于载体的不同，包被的方法也不同。
- ✓ 如以聚苯乙烯 ELISA 板为载体，通常将抗原或抗体溶于缓冲液（最常用 pH9.6 的碳酸缓冲液）中，加于 ELISA 板孔中在 4°C 过夜，经清洗后即可应用。如果包被液中的蛋白质浓度过低，固相载体表面有能被此蛋白质完全覆盖，其后加入的血清标本和酶结合物中的蛋白质也会部分地吸附于固相载体表面，最后产生非特异性显色而导致本底偏高。在这种情况下，如在包被后再用 1%~5% 牛血清白蛋白包被一次，可以消除这种干扰，这一过程称为封闭（blocking）。包被好的 ELISA 板在低温可放置一段时间而不失去其免疫活性。

碧云天ELISA检测技术服务

ELISA试剂

➤ 酶和底物

- ◆ ELISA 中所用的酶要求纯度高、催化反应的转化率高、专一性强、性质稳定、来源丰富、价格低廉、制备成的酶标抗体或抗原性质稳定，保留其活性部分和催化能力。最好在受检标本中不存在与标记酶相同的酶。
- ◆ 酶的相应底物应易于制备和保存，价格低廉，有色产物易于测定，光吸收高。
- ✓ ELISA 中最常用的酶为辣根过氧化酶（HRP）和从牛肠粘膜或大肠杆菌提取的碱性磷酸酶（AP）。

碧云天ELISA检测技术服务

ELISA试剂

➤ 结合物

- ◆ 酶标记的抗原或抗体称为结合物（conjugate）。抗原由于化学结构不同，可用不同的方法与酶结合。如为蛋白质抗原，基本上可参考抗体酶标记的方法。制备抗体酶结合物的方法通常有以下几种。
 - ✓ 戊二醛交联法戊二醛是一种双功能团试剂，可以使酶与蛋白质或其他抗原的氨基通过它而偶联。戊二醛交联可用一步法（如连接 AP），也可用二步法（如连接 HRP）。
 - ✓ 过碘酸盐氧化法只用于 HRP 的交联。该酶含 18%碳水化合物，过碘酸盐将其分子表面的多糖氧化为醛基。用硼氢化钠（NaBH₄）中和多余的过碘酸。酶上的醛根很活泼，可与蛋白质结合，形成按摩尔比例结合的酶标结合物。

碧云天ELISA检测技术服务

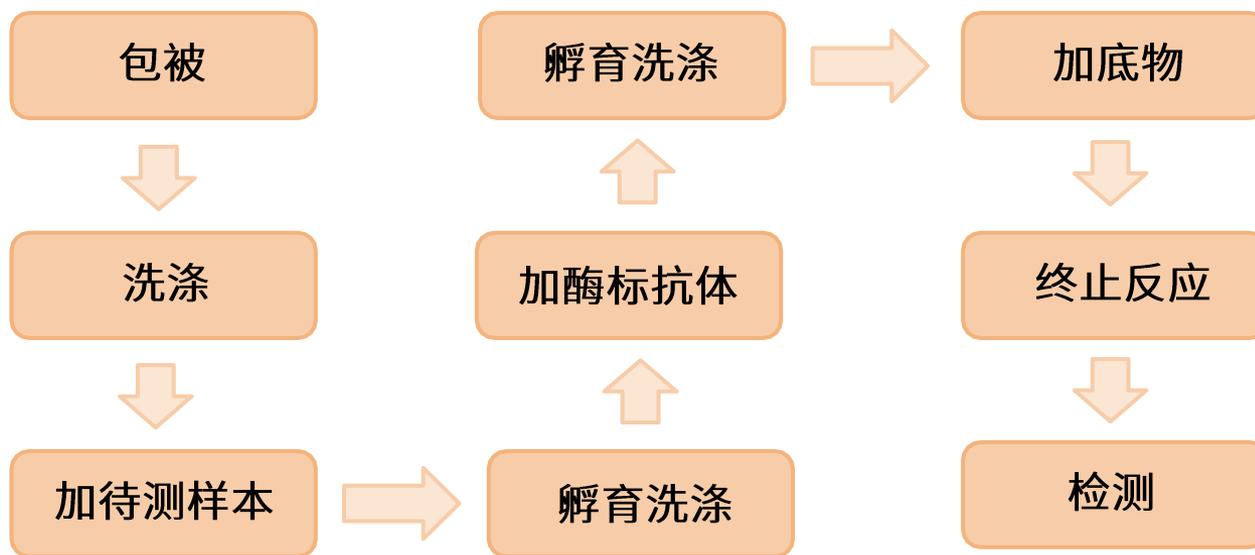
ELISA试剂

➤ 酶反应终止液

- ◆ 常用的HRP反应终止液为硫酸，其浓度按加量及比色液的最
终体积而异，在板式ELISA中一般采用2mol/L。

碧云天ELISA检测技术服务

实验步骤



碧云天ELISA检测技术服务

ELISA操作注意事项

➤ 加样

- ◆ 在ELISA中一般有3次加样步骤，即加标本，加酶结合物，加底物。加样时应将所加物加在ELISA板孔的底部，避免加在孔壁上部，并注意不可溅出，不可产生气泡。

碧云天ELISA检测技术服务

ELISA操作注意事项

➤ 保温

- ◆ ELISA检测 中一般涉及二次反应，即加标本后和加结合物。反应的
温度和时间应按规定的要求，保温容器最好是水浴箱，可使温度迅
速平衡。各 ELISA 板不应叠放。为避免蒸发，板上应加盖，或将
板平放在底部垫有湿纱布的湿盒中。湿盒最好是金属的，传热容易。
如用保温箱，空湿盒应预先放在其中，以平衡温度，这在室温较低
时更为重要。加入底物后，反应的时间和温度通常不做严格要求。
如室温高于 20°C， ELISA 板可避光放在实验台上，以便不时观察，
待对照管显色适当时，即可终止酶反应。

碧云天ELISA检测技术服务

ELISA操作注意事项

➤ 洗涤

- ◆ 洗涤在 ELISA 实验中虽不是反应过程，但却是决定实验成败的关键。洗涤的目的是洗去反应液中没有与固相抗原或抗体结合的物质以及在反应过程中非特异性吸附于固相载体的干扰物质。
- ◆ ELISA 板的洗涤一般可采用以下方法：
 - ① 吸干孔内反应液；
 - ② 将洗涤液注满板孔；
 - ③ 放置 2min，略作摇动；
 - ④ 吸干孔内液，也可倾去液体后在吸水纸上拍干。
- ✓ 洗涤的次数一般为 3~4 次，有时甚至需洗 5~6 次。

碧云天ELISA检测技术服务

ELISA操作注意事项

➤ 显色

- ◆ 显色是ELISA实验中最后一步温育反应，此时酶催化无色的底物生成有色的产物。反应的温度和时间仍是影响显色的因素。在一定时间内，阴性孔可保持无色，而阳性孔则随时间的延长而呈色加强。适当提高温度有助于加速显色进行。在定量测定中，加入底物后的反应温度和时间应按规定力求准确。定性测定的显色可在室温进行，时间一般不需要严格控制，有时可根据阳性对照孔和阴性对照孔的显色情况适当缩短或延长反应时间，及时判断。

碧云天ELISA检测技术服务

ELISA操作注意事项

➤ 比色

- ◆ 如阴性对照颜色极浅，在定性测定中一般可采用目视比色。如用比色计测定结果，准确性决定于 ELISA 板底的平整与透明度和比色计的质量。

碧云天ELISA检测技术服务

ELISA操作注意事项

➤ 定性测定

- ◆ 定性测定的结果判断是对受检标本中是否含有待测抗原或抗体作出"有"或"无"的简单回答，分别用"阳性"、"阴性"表示。"阳性"表示该标本在该测定系统中有反应。"阴性"则为无反应。用定性判断法也可得到半定量结果，即用滴度来表示反应的强度，其实质仍是一个定性试验。在这种半定量测定中，将标本作一系列稀释后进行试验，呈阳性反应的最高稀释度即为滴度。根据滴度的高低，可以判断标本反应性的强弱，这比观察不稀释标本呈色的深浅判断为强阳性、弱阳性更具定量意义。

碧云天ELISA检测技术服务

ELISA操作注意事项

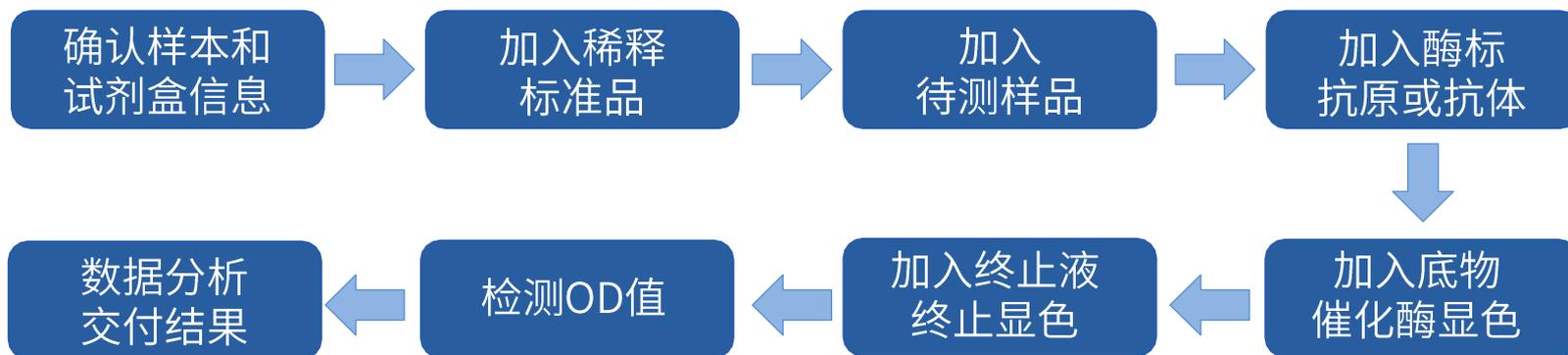
➤ 定量测定

- ◆ ELSIA 操作步骤复杂，影响反应因素较多，特别是固相载体的包被难达到各个体之间的一致，因此在定量测定中，每批测试均须用一系列不同浓度的参考标准品在相同的条件下制作标准曲线。
- ◆ 测定大分子量物质的夹心法ELISA，标准曲线的范围一般较宽，曲线的值逐点连接，所得曲线一般呈S形，其头、尾部曲线趋于平坦，中央较呈直线的分是最理想的检测区域。

严谨的设计，优质的试剂盒，正确的操作和良好的检测设备是保证ELISA结果准确可靠的关键。

碧云天ELISA检测技术服务

服务流程



- 附件 《碧云天ELISA检测询价单》
《碧云天ELISA检测生物样品信息表》
《碧云天ELISA检测生物送样要求》

碧云天ELISA检测技术服务

询价与订购

- 请您下载并填写《碧云天ELISA技术服务询价单》，发送至 service@beyotime.com，我们的专业技术人员将在第一时间为您提供准确报价。
- 若有订购意向，碧云天的技术服务人员会与您联系，并签订《碧云天ELISA检测服务协议书》。
- 送样时，请下载并填写《碧云天ELISA检测生物样品信息表》，发送至 service@beyotime.com或碧云天ELISA检测技术服务人员邮箱，样品的具体要求参见《碧云天ELISA检测生物送样要求》。

碧云天ELISA检测技术服务

客户须知

➤ 样品要求

- 客户需提供新鲜或正确保存的待检测样本，最好是液态类的样本(细胞培养上清、组织匀浆、血清、血浆、尿液、胸水、腹水、脑脊液等)，样本量120ul/孔，建议提供足量样本>500μl；
 - a) 细胞培养上清：离心去除沉淀，收集上清。
 - b) 血清、血浆：推荐提供血浆，一般不加抗凝剂，收集全血后立即离心，若必须使用抗凝剂，建议使用EDTA，避免使用肝素钠、柠檬酸溶液。收集血浆后，建议分装保存，-70℃保存。样本应避免溶血，避免反复冻融，不接受高脂样本。
 - c) 组织匀浆：建议液氮研磨，加入蛋白酶抑制剂。
 - d) 细胞匀浆：建议加入蛋白酶抑制剂。
- 客户需提供待检测样本详细信息：如种属来源、样本类型等；
- 客户需提供ELISA检测试剂盒，也可由碧云天代购；
- 如需碧云天制备ELISA检测试剂盒，需提供原料及详细信息；
- 运输要求：参考《碧云天ELISA检测生物送样要求》，样本应避免各类污染和反复冻融。

碧云天ELISA检测技术服务

客户须知

➤ 服务说明

- 若因客户提供ELISA检测试剂盒原因导致实验失败，由此造成的损失由客户承担。
- 客户应对所提供的材料及信息负责，如因客户提供的材料及信息不准确而引起的实验延误或经济损失由客户承担。
- 因科学实验的不确定性，实验结果不一定会出现阳性结果，我们保证实验结果的真实准确性，但是对结果是否符合预期不做承诺。

碧云天ELISA检测技术服务

服务承诺

➤ 碧云天ELISA检测技术服务承诺

◆ 碧云天ELISA检测实验交付：

- ✓ 终止前和终止后的照片
- ✓ 原始OD值
- ✓ 数据分析结果

◆ 碧云天制备ELISA试剂盒服务交付：

- ✓ ELISA试剂盒

◆ 碧云天配方研发服务交付：

- ✓ 研发抗体、链亲和素HRP酶的稳定性交付：研发完成的保护液(100ml)；
- ✓ 蛋白冻干配方研发服务交付：配方。

Thank You



碧云天
Beyotime



碧云天网站



微信公众号

碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
订购热线：400-168-3301或800-8283301
技术咨询：info@beyotime.com
技术服务：service@beyotime.com
网址：<http://www.beyotime.com>