ClinMax™ 人白介素8（IL-8）定量测定试剂盒（ELISA）

货号：CEA-C004

规格: 96 tests

重要提示：在进行实验之前请仔细阅读本手册。

本试剂盒仅用于科研使用，不可用于诊断或治疗应用。

目录

背景介绍..... 1
检测原理..... 1
注意事项..... 1
试剂盒组分..... 1
需要但未提供的试剂/设备..... 2
样品收集和储存..... 2
试剂储存条件及期限说明..... 2
试剂制备..... 3
检测流程..... 3
结果解读..... 4
使用注意事项..... 5
流程指南..... 6
典型数据..... 7
常见问题指南..... 14

生产企业：百斯医学诊断科技（北京）有限公司
生产地址：北京经济技术开发区永昌北路 3 号永昌工业园 3 号楼 8106-8107
电话：010-67855298-8147
邮箱：IVD.AcroDiagnostics@acrobiosystems.com

销售企业：北京百普赛斯生物科技股份有限公司
地址：北京经济技术开发区宏达北路 8 号 5 号楼 4 层
电话：400-682-2521（全国） 010-53681107（北京）
邮箱：order.cn@acrobiosystems.com

背景介绍

该试剂盒用于定量检测人血清、血浆和细胞上清中白介素 8（IL-8）的浓度。试剂盒仅供科研使用。

检测原理

该试剂盒采用标准夹心酶联免疫吸附技术定量检测人白介素 8（IL-8）的浓度。用抗人 IL-8 抗体包被于酶标板上，实验时样品或标准品中的人 IL-8 会与包被抗体结合，游离的成分被洗去。依次加入生物素化的抗人 IL-8 抗体和辣根过氧化物酶标记的亲和素。抗人 IL-8 抗体与结合在包被抗体上的人 IL-8 结合、生物素与亲和素特异性结合而形成免疫复合物，游离的成分被洗去。加入显色底物（TMB），TMB 在辣根过氧化物酶的催化下呈现蓝色，加终止液后变成黄色。用酶标仪在 450nm 和 630nm 波长处测 OD 值，IL-8 浓度与 OD 值之间呈正比，通过绘制标准曲线计算出样品中 IL-8 的浓度。

注意事项

1. 本试剂盒仅供研究使用，不可用于诊断或治疗应用。
2. 不要将试剂与其他批次或来源的试剂混合或替换。
3. 如果样品产生的值高于最高标准，用适当的校准稀释剂稀释样品并重复测定。

试剂盒组分

表1. 试剂盒组分

货号	组分名称	规格 (96 tests)	形态	储存条件	
				未开封	已开封
CEA004-C01	Pre-coated Anti-IL-8 Ab Microplate	1 plate	固态	2~8 °C	2~8 °C
CEA004-C02	IL-8 Calibrator	20 μg×2	冻干粉	2~8 °C	-70°C
CEA004-C03	Biotin-Anti-IL-8 Ab Con. Solution	100 μL	液态	2~8 °C	2~8 °C
CEA004-C04	Biotin-Ab Dilution Buffer	8 mL	液态	2~8 °C	2~8 °C
CEA004-C05	IL-8 SA-HRP Con. Solution	0.5 mL	液态	2~8 °C	2~8 °C
CEA004-C06	SA-HRP Dilution Buffer	15 mL	液态	2~8 °C	2~8 °C
CEA004-C07	20× Washing Buffer	50 mL	液态	2~30 °C	2~30 °C
CEA004-C08	Sample Dilution Buffer	15 mL×2	液态	2~8 °C	2~8 °C
CEA004-C09	Substrate Solution	12 mL	液态	2~8 °C	2~8 °C
CEA004-C10	Stop Solution	6 mL	液态	2~30 °C	2~30 °C

需要但未提供的试剂/设备

带450nm或630nm滤光片的单波长或双波长酶标仪；

离心机；

10 µL, 200 µL 和 1000 µL 精密移液器；

10 µL, 200 µL 和 1000 µL 移液器吸头；

多道移液器；

离心管；

量筒；

超纯水或去离子水或蒸馏水。

样品收集和储存

下面列出的样品收集和储存条件旨在作为一般指南。样品稳定性尚未评估。

血清 - 使用血清分离管（SST）并让样品在室温下凝结30分钟，然后以1000 ×g离心15分钟。立即取出血清并进行检测。

血浆 - 使用 EDTA、肝素或柠檬酸盐作为抗凝剂收集血浆。在收集后30分钟内以1000 ×g离心15分钟。立即测定。

样本储存 - 样本收集后24h内如无法测定，应在-20℃或更低的温度下冷冻，可稳定六个月。样品允许冻融一次。

试剂储存条件及期限说明

未开封的试剂盒自生产之日起可在 2℃~8℃下稳定保存 12 个月。

已开封的试剂盒应按照表 1 进行储存。保质期为自打开之日起 30 天。

注意：*a. 不要使用过期的试剂。*

b. 有效期在包装上查看。

试剂制备

使用前将所有试剂和样品置于室温（18℃~25℃）。如果在缓冲溶液中形成晶体，请将样品置于 37℃培养箱中，直至晶体完全溶解，然后在使用前将溶液恢复至室温。

按照表 2 建议，用超纯水将所提供的冻干品配制成存储溶液，在室温下溶解 15 至 30 分钟，轻轻吹吸混匀，避免剧烈摇动或涡旋。重构的存储液应在-70℃保存，建议冻融次数不要超过 1 次，分装规格不低于 10 μg。

表2. 配制方法

货号	组分名称	规格 (96 tests)	存储液浓度	重构水体积
CEA004-C02	IL-8 Calibrator	20 μg	20 μg/mL	1 mL

检测流程

1. 工作液配制

1.1 制备 1×Washing Buffer

用超纯水/去离子水/蒸馏水将 50 mL 20×Washing Buffer 稀释至 1000 mL。

1.2 制备 Biotin-Anti-IL-8 Ab Solution

取 60 μL Biotin-Anti-IL-8 Ab Con. Solution 加入 6 mL Biotin-Ab Dilution Buffer，轻轻摇匀，现用现配。

1.3 制备 IL-8 SA-HRP Solution

取 300 μL 100× IL-8 SA-HRP Con. Solution 加入 12 mL SA-HRP Dilution Buffer，轻轻摇匀，现用现配。

2. 制备标准曲线

复溶后标准品（CEA004-C02）的浓度为 20 μg/mL，取 10 μL 的标准品储存液，加入到 990 μL 的稀释液中（Cm），然后取 Cm 溶液 4 μL，加入到 996 μL 的稀释液中（Calibrator-1），作为标准曲线的最高浓度 Calibrator-1（800 pg/mL）。在后续每一个离心管中加入 500 μL Sample Dilution Buffer，使用高浓度标准品做 1:1 系列稀释。以稀释液作为标准曲线的零浓度。

3. 加入样品和生物素抗体溶液

每孔加入 50 μL IL-8 Calibrator，或 50 μL 样品，最后每孔加入 50 μL Biotin-Anti-IL-8 Ab Solution，用密封膜密封微孔板，在室温（18℃~25℃）下孵育 1.0 小时。

4. 洗涤

吸出剩余溶液，向每个孔中加入 300 μL 1×Washing Buffer，轻轻敲击板 1 分钟，去除任何剩余的 1×Washing Buffer：通过吸出或倾到，倒置板并用纸巾吸干。重复上述洗涤步骤五次。

5. 加入 IL-8 SA-HRP Solution

向微孔板中加入 100 μL IL-8 SA-HRP Solution。用密封膜密封微孔板，在室温（18℃~25℃）下孵育 30 分钟，避光。

6. 洗涤

重复步骤 4。

7. 底物液

每孔加入 100 μL 底物溶液，用密封膜密封微孔板并在室温（18℃~25℃）下孵育 15 分钟，避光。

8. 终止液

向每个孔中加入 50 μL 终止溶液，轻轻敲击板以充分混合。终止反应后，十分钟内上机读数。

注意: *孔中的颜色应从蓝色变为黄色。*

9. 数据记录

使用 UV/Vis 微孔板分光光度计读取 450nm 和 630nm 处的吸光度。

注意: *为了减少背景噪音，用 450nm 读取的值减去 630nm 读取的值。*

结果解读

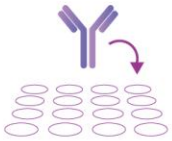
1. 标准曲线的范围: R2 ≥ 0.9900。
2. 如果待测样品的 OD 值高于最高标准，应将样品用稀释缓冲液稀释后重复测定。
3. 校准标准曲线得到的吸光度值，将待测样品的 OD 值减去空白对照的 OD 值。以标准浓度为 x 轴，校准吸光度值为 y 轴绘制标准曲线。Log-Log 线性回归方程用于绘制标准曲线并计算样品浓度。

使用注意事项

1. 所有化学品都应被视为具有潜在危险。因此，我们建议仅由受过实验室技术培训的人员处理本产品，并按照良好实验室规范的原则使用本产品。穿戴合适的防护服，例如实验室工作服、安全眼镜和手套。应注意避免接触皮肤或眼睛。在接触皮肤或眼睛的情况下立即用水清洗。有关具体建议，请参阅材料安全数据表和/或安全声明。
2. 请勿使用超过标签上有效期的试剂盒试剂。
3. 为避免可能导致测试无效的试剂或样本的微生物污染或交叉污染，请使用一次性移液器吸头和/或移液器。
4. 使用干净的专用试剂托盘分配结合物和底物试剂。
5. 试剂制备必须使用蒸馏水或去离子水。
6. 应按照提供的说明使用本试剂盒。
7. 不同批次试剂不要混用。
8. 使用前将所有试剂和样品置于室温（18℃~25℃）。如果在缓冲溶液中形成晶体，则孵育直至晶体完全溶解。使用前，将溶液恢复至室温。
9. 试剂盒应该保存在 2℃~8℃。

流程指南

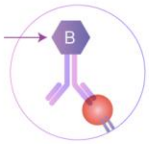
Quick Guide



1 Prepare

Prepare all reagents, standard curve, and samples as instructed.

↓

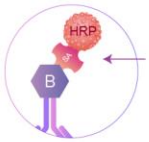


2 Sample & detection antibody

Add test sample mix to wells.（Calibrator、samples、Biotin-Ab Solution）

↓ 18-25℃ 1.0 hour

Remove liquid and wash plate

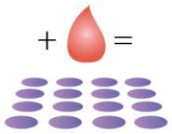


3 Streptavidin-HRP Solution

Add enzyme conjugated Streptavidin

↓ 18-25℃ 30 min avoid light

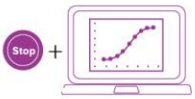
Remove liquid and wash plate



4 Substrate Reaction

Colorimetric substrate is added to the wells and will form a colored solution when catalyzed by the enzyme.

↓ 18-25℃ 15 min avoid light



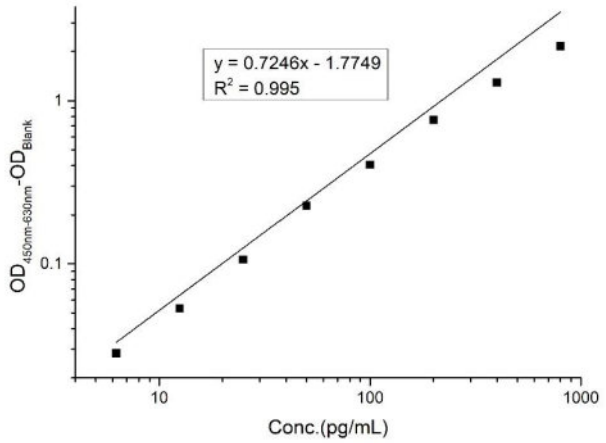
5 Termination +Analysis

Add Stop solution and read absorbance at 450nm and 630nm using UV/Vis microplate spectrophotometer.

典型数据

注意: *以下数据仅供参考。根据标准曲线的结果计算样品浓度。*

IL-8 Calibrator (pg/mL)	$OD_{450nm-630nm}$
800	2.198
400	1.338
200	0.809
100	0.452
50	0.273
25	0.152
12.5	0.100
6.25	0.075
Blank	0.046



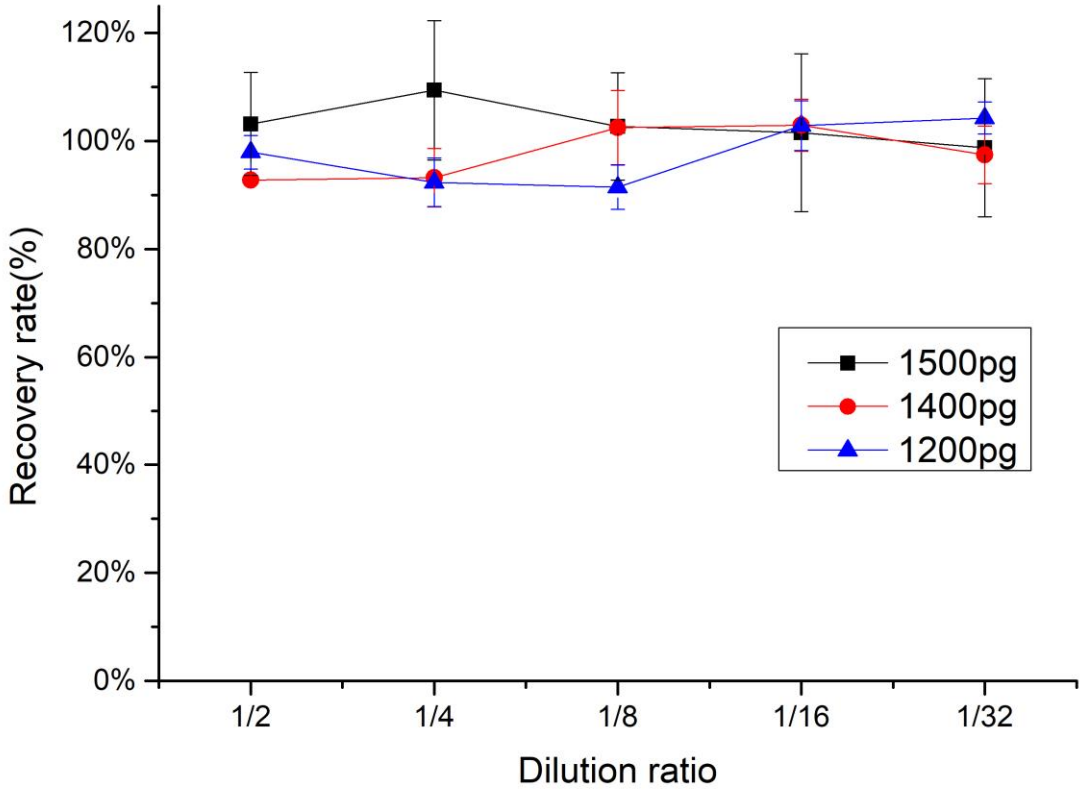
1. 灵敏度

IL-8 最低可检测浓度小于 3.0 pg/mL。

	Lot 1	Lot 2	Lot 3
Number of Replicates	20	20	20
Limit of blank (pg/mL)	2.32	1.97	2.45

2. 线性

将三份高值 IL-8 血清样本按 1:2、1:4、1:8、1:16、1:32 进行稀释，测定在线性范围内样品的值。从血清样本中平均可检测到 103.12%的 IL-8 蛋白。



3. 校准品检测

该试剂盒已使用 NIBSC/WHO 的标准品针对高度纯化的人 IL-8 进行了校准。参考标准品白细胞介素 8（Human, rDNA derived）NIBSC code: 89/520。

NIBSC (89/520) 近似浓度 (IU/mL)=0.1 × ClinMax™ 检测浓度 (pg/mL)。

4. 特异性

当该试剂盒用于分析高达 1 μg/mL 以下的重组细胞因子时，未观察到交叉反应。

Human	IL-1β，IL-2，IL-4，IL-5，IL-6，IL-7，IL-10，IL-12 p70，IL-13、IL-15、IL-17、GM-CSF、TNF-α、IFN-γ

5. 批内差

同一批试剂中测试含有不同浓度的5个 IL-8样品，每个样本检测十次，批内精密性CV＜10%。

Lot 1	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5
Number of Replicates	10	10	10	10	10
Mean Concentration (pg/mL)	783.20	667.80	422.80	17.85	6.85
Standard Deviation	47.55	20.58	15.39	1.59	0.62
Coefficient of Variation (%)	6.07%	3.08%	3.64%	8.90%	9.07%
Lot 2	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5
Number of Replicates	10	10	10	10	10
Mean Concentration (pg/mL)	749.60	522.60	377.20	19.59	6.29
Standard Deviation	34.40	26.54	14.48	1.22	0.44
Coefficient of Variation (%)	4.59%	5.08%	3.84%	6.22%	6.99%
Lot 3	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5
Number of Replicates	10	10	10	10	10
Mean Concentration (pg/mL)	803.20	585.60	422.40	20.96	5.84
Standard Deviation	33.46	30.90	26.26	1.59	0.51
Coefficient of Variation (%)	4.17%	5.28%	6.22%	7.60%	8.68%

6. 批间差

对 5 个不同浓度的 IL-8 样品进行 3 个批次测试，批间精密性 CV＜15%。

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 8	Sample 5
Number of Assays	3	3	3	3	3
Mean Concentration (pg/mL)	778.67	592.00	407.47	19.47	6.33
Standard Deviation	38.47	26.01	18.71	1.47	0.52
Coefficient of Variation (%)	4.94%	4.39%	4.59%	7.54%	8.26%

7. 回收率

将重组 IL-8 蛋白加标到 5 份人血清样品中，然后进行分析。从血清样本中平均回收了97.54%的 IL-8 蛋白。

	Lot 1					Lot 2					Lot 3				
Sample Number	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Spiked Volume	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Sample volume	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19
Sample Concentration (pg/mL)	5.79	5.54	4.10	2.42	2.10	5.79	5.54	4.10	2.42	2.10	5.79	5.54	4.10	2.42	2.10
Spiked Concentration(pg /ml)	8000	8000	8000	8000	8000	8000	8000	8000	8000	8000	8000	8000	8000	8000	8000
Spiked Sample Concentration (pg/mL)	439.34	456.06	367.29	363.65	388.52	441.86	352.90	386.49	344.41	365.52	380.30	421.10	354.45	404.77	429.44
Recovery rate (%)	108.46%	112.70%	90.85%	90.34%	96.63%	109.09%	86.91%	95.65%	85.53%	90.88%	93.70%	103.96%	87.64%	100.62%	106.86%
Spiked Concentration (pg/mL)	6000	6000	6000	6000	6000	6000	6000	6000	6000	6000	6000	6000	6000	6000	6000
Spiked Sample Concentration (pg/mL)	325.78	262.61	270.17	301.94	278.93	327.05	316.70	299.80	284.91	303.53	345.44	311.76	284.03	304.08	345.96
Recovery rate (%)	108.25%	87.18%	89.77%	100.36%	92.67%	108.67%	105.29%	99.63%	94.70%	100.89%	114.85%	103.59%	94.40%	101.04%	114.98%

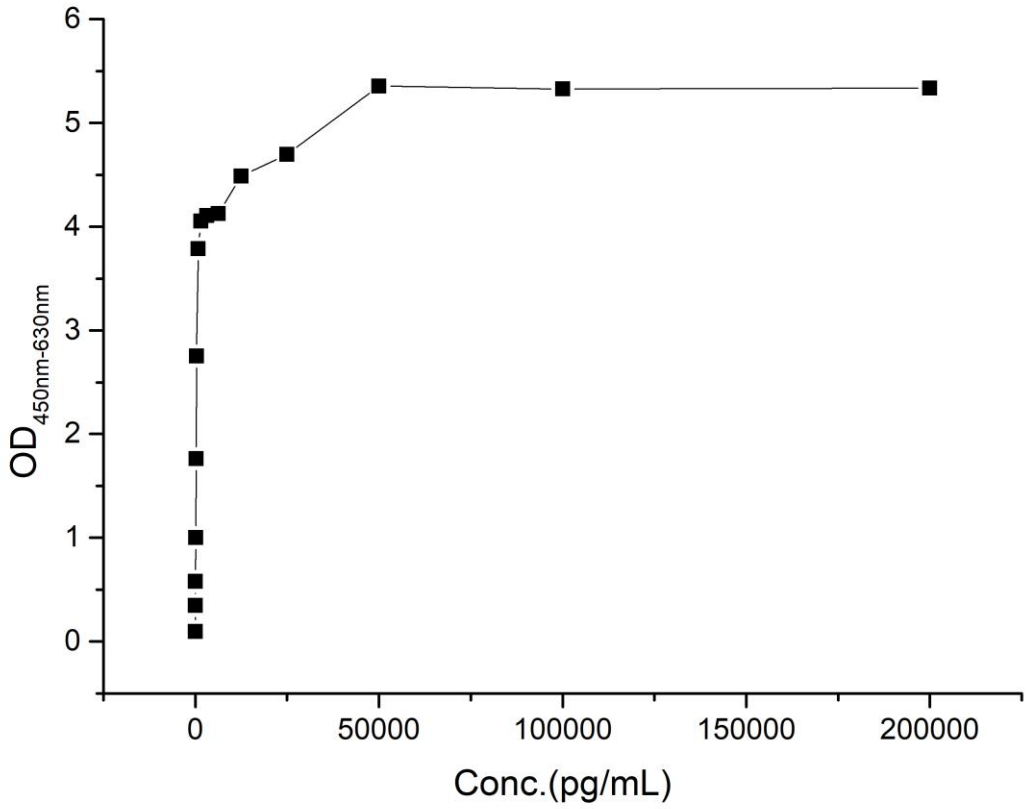
Spiked Concentration (pg/mL)	4000	4000	4000	4000	4000	4000	4000	4000	4000	4000	4000	4000	4000	4000	4000
Spiked Sample Concentration (pg/mL)	186.21	205.75	174.29	178.21	175.94	194.41	208.24	186.47	183.40	185.26	194.81	174.90	188.20	199.88	204.67
Recovery rate (%)	92.59%	102.46%	86.72%	88.63%	87.53%	96.69%	103.62%	92.76%	91.25%	92.15%	96.86%	86.96%	93.65%	99.46%	101.79%

将重组 IL-8 蛋白加标到细胞上清样品中，然后进行分析。从细胞上清样本中平均回收了98.87%的 IL-8 蛋白。

	Lot 1	**Lot 2**	**Lot 3**
Spiked Volume	1	1	1
Sample volume	19	19	19
Sample Concentration (pg/mL)	3.46	2.65	2.47
Spiked Concentration(pg/ml)	9000	9000	9000
Spiked Sample Concentration (pg/mL)	465.43	447.12	430.25
Recovery rate (%)	102.70%	98.80%	95.09%
Spiked Concentration (pg/mL)	7000	7000	7000
Spiked Sample Concentration (pg/mL)	325.92	309.22	401.48
Recovery rate (%)	92.84%	88.08%	114.45%
Spiked Concentration (pg/mL)	5000	5000	5000
Spiked Sample Concentration (pg/mL)	222.33	269.26	255.84
Recovery rate (%)	88.58%	107.37%	101.90%

8. 钩状效应

IL-8 浓度高于 50ng/mL 不影响检测结果。



9. 干扰实验

胆红素（模拟黄疸血）浓度小于 20mg/dL，血红蛋白（模拟溶血）浓度不大于 3500mg/dL ，甘油三酯（模拟脂血）浓度不大于 2.0g/L ，肝素浓度小于 40U/mL，EDTA 浓度小于 4mg/mL，柠檬酸钠浓度不得高于 40mg/mL，不影响检测结果。

	Bilirubin (20mg/dL)	**Hemoglobin (3500mg/dL)**	**Triglyceride (2.0g/L)**	**Heparin (40U/mL)**	**EDTA Plasma（4mg/mL）**	**Sodium citrate Plasma(40mg/mL)**
Spiked Sample Concentration (pg/mL)-1	105.23	98.50	102.28	104.18	103.44	102.39
Sample Concentration (pg/mL)-1	108.07	107.06	101.16	98.97	106.65	95.02
RD	-2.70%	-8.70%	1.10%	5.00%	-3.10%	7.20%
Spiked Sample Concentration (pg/mL)-2	1.84	1.78	1.86	1.70	1.79	1.70
Sample Concentration (pg/mL)-2	1.54	1.49	2.18	1.88	2.11	1.50
RD	≤Lob	≤Lob	≤Lob	≤Lob	≤Lob	≤Lob

10. 样本值

在该测定中，进行了 240 例健康人样本中 IL-8 浓度检测；全部 240 个样品测量值介于 3 和 800 pg/mL 之间。

常见问题指南

问题	原因	解决方法
标准曲线差	* 移液不准确	* 检查移液器
CV 值偏高	* 移液不准确 * 孔中有气泡	* 检查移液器 * 去除孔中的气泡
背景高	* 板子清洗不充分 * 洗涤缓冲液被污染	* 按操作步骤正确清洗 * 制备新的洗涤缓冲液
整板读数偏低	* 波长选择错误 * 孵育时间不足	* 检查波长参数 * 增加孵育时间
标准曲线正常，样品读值高	* 样本中的细胞因子水平高于检测范围	* 稀释样本再次进行检测
曲线漂移	* 加样时间过长 * 试剂不在室温下	* 在检测开始之前准备好所有的标准品和样品，尽量控制加样时间 * 除非抗体等物质有特殊说明，否则在加样前所有试剂都处于室温状态