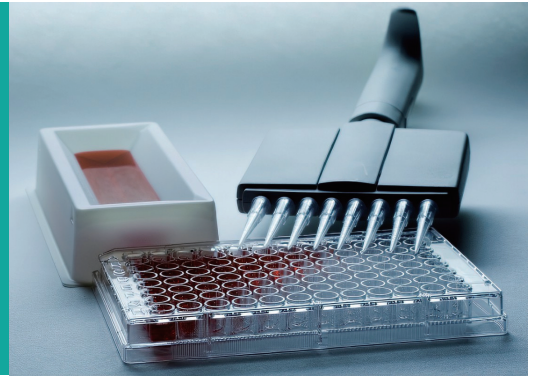


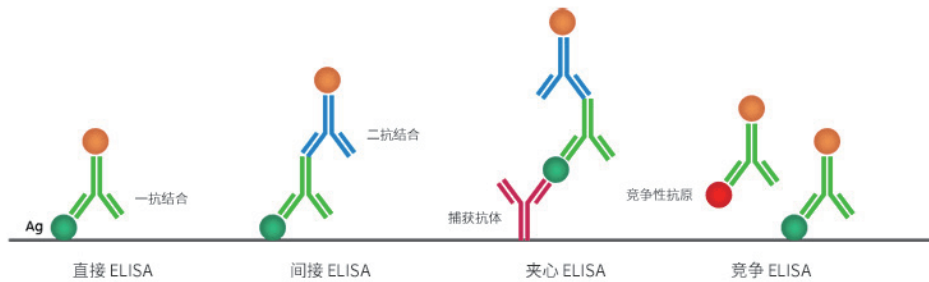
# 酶联免疫吸附测定试剂盒

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA



酶联免疫吸附测定 (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) 指将可溶性的抗原或抗体结合到聚苯乙烯等固相载体上, 利用抗原抗体特异性结合进行免疫反应的定性和定量检测方法。具有操作简单、快速、敏感性高、特异性强、实验设备要求简单等优势, 是科学研究中的常用实验手段。

**实验原理:** 利用抗原抗体的特异性反应原理。将抗原或抗体固相化及抗原或抗体酶标记, 加入酶反应的底物后, 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, 由此进行定性或定量分析。



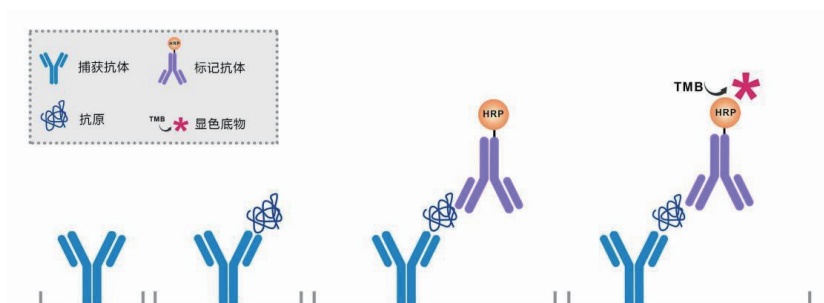
**直接法:** 将抗原固定于 ELISA 板上, 然后用酶标抗体直检测抗原。

**特点:** 直接 ELISA 实验步骤少, 检测速度快, 不需要用到二抗, 避免了交叉反应, 测定结果不容易出错。但是由于直接 ELISA 的抗原不是特异性固定的, 样本中的靶蛋白及其他杂质蛋白都会与 ELISA 板结合, 实验背景会比较高。而且直接 ELISA 每种靶蛋白都需要准备能够与其特异性结合的一抗, 实验不太灵活。另外由于没有使用二抗, 信号没有被放大, 降低了测定的灵敏度。

**间接法:** 先将抗原结合到 ELISA 板上, 随后分两步进行检测: 首先加入检测抗体与抗原特异性结合, 随后加入酶标二抗检测并利用底物显色。

**特点:** 与直接 ELISA 相比, 间接 ELISA 用到酶标二抗, 具有更高的灵敏度, 也需要更少的标记抗体, 更经济。间接 ELISA 还提供了更大的灵活性, 因为不同的一抗能够与单一标记的二抗一同使用。间接 ELISA 实验的缺点是存在交叉反应的可能性(酶标二抗直接与抗原结合), 可能会增加背景, 同时与直接 ELISA 相比, 间接 ELISA 实验多了二抗孵育的步骤, 实验周期延长。

**夹心法:** 先将捕获抗体固定于 ELISA 板孔中, 然后加入样品, 接着加入检测抗体。如果检测抗体是酶标抗体, 则可称为直接夹心 ELISA; 如果检测抗体不带有标记, 则还需要使用酶标二抗与检测抗体结合, 这种称为间接夹心 ELISA。



**特点：**夹心 ELISA 的灵敏度高，它比直接或间接 ELISA 敏感 2-5 倍；同时夹心 ELISA 使用两种特异性抗体与抗原结合，拥有很高的特异性。夹心 ELISA 的缺点是对对抗体要求很高，如果没有标准化的试剂盒或者已经通过测试的对抗体，则需要进行对抗体定制并进行优化，因为降低捕获抗体与检测抗体之间的交叉反应是非常重要的。

**竞争法：**预先将抗原包被在固相载体上，并加入酶标记的特异性抗体。实验时，加入待检抗原(或抗体)，如果待检物是抗原，则待检抗原与预先包被在固相载体上的抗原竞争结合酶标抗体；如果待检测物是抗体，则待检抗体就与系统中原有的酶标抗体竞争结合包被在固相载体上的抗原。通过洗涤洗掉被竞争结合的酶标抗体，最后加底物显色。需要注意的是显色结果与待检抗原(或抗体)的量成反比。

**特点：**竞争 ELISA 相对以上介绍的三种方法更复杂一些，但以上三种 ELISA 类型都适用于竞争 ELISA 的形式。其主要优点在于可检测不纯的样品，且数据再现性高，但存在整体敏感性和专一性较差的问题。

## ELISA常见问题及解决方法

问题	可能原因	解决方案
背景偏高	清洗不当	按照操作规程清洗，清洗间隙增加浸润时间
	交叉污染	及时更换吸头，避免交叉污染。清洗后将孔内溶液吸干。
	底物原因	加入底物前，确保颜色为无色，出现淡蓝色会造成背景偏高
	生物素化抗体、酶等稀释不当	确保按照操作规程稀释
	酶标板不合适	采用高吸附性酶标板
无信号	错误操作	确保按照操作规程实验
	酶抑制剂	清洗液、酶稀释液中避免出现叠氮钠等酶抑制剂
	清洗不当	按照正确流程清洗
	标准品稀释不当	按照标准品处理流程操作
	孵育时间过短	增加孵育时间
信号偏弱	试剂储存不当	按照试剂盒储存要求保存
	酶标仪波长选择不当	确认酶标仪设定参数
	酶标板选择不合适	选择高吸附性酶标板
	清洗不当	按照正确流程清洗
	样品混合问题	确保样品有效混匀
平行性差	酶标板污染	使用前检查酶标板是否有污染和刮伤
	酶标板选择不合适	选择优质酶标板
	试剂过期	使用前检查试剂是否在有效期内



地址：苏州工业园区新平街388号腾飞创新园A2-1004室  
服务热线：400-829-9200

邮箱：sales@realgen-bio.com  
网址：www.realgen-bio.com