contact us:
USA: proteintech@ptglab.com
UK & europe: europe@ptglab.com
China: Proteintech-CN@ptglab.com

Mouse 单克隆抗体亚型鉴定试剂盒说明书

试剂盒组分

Catalog No.	KMI-2	KMI-5
酶标板(Microplate) 预包被了针对小鼠 IgG1，IgG2a，IgG2b，IgG2c，IgG3，IgM，kappa light chain，lambda light chain 的特异性抗体	2 块	5 块
封板膜(Plate Cover seals)	2 张	5 张
20×PBST	15 mL	20mL×2
100×羊抗鼠 IgM+IgG-HRP (Goat Anti-Mouse IgM+IgG-HRP)	120 μL	300 μL
显色液 (TMB Substrate) A 液	240 μL	600 μL
显色液 (TMB Substrate) B 液	24 mL	30mL×2
终止液 (Stop Solution)	24 mL	30mL×2

储存条件

该试剂盒在低温下运输，收到后请置于 4°C 保存，保存时间 6 个月。

操作步骤

1. 材料准备

从 4°C 中取出 Mouse 单克隆抗体亚型鉴定试剂盒，室温条件下平衡 30 分钟。

a. 1×PBST　　10 mL 20×PBST + 190 mL 超纯水

b. 酶标板条　　根据样本数量选取酶标板条数（测定 **1 个**样本需要 **1 条**酶标板条），余下板条置于密封袋中，4°C 保存。

c. 1×羊抗鼠 IgM+IgG-HRP　　10 μL 100×羊抗鼠 IgM+IgG-HRP + 990 μL 1×PBST

2. 样本准备

a. 杂交瘤细胞上清　　将样本以 1×PBST 1:100 稀释，例如 10 μL 杂交瘤细胞上清 + 990 μL 1×PBST。推荐稀释范围为 1:20-1:200。

b. 腹水　　将样本以 1×PBST 1:100000 稀释，例如 1 μL 腹水 + 1 mL 1×PBST（1:1000），再取上述混合液 5 μL + 495 μL 1×PBST。推荐稀释范围为 1:50000-1:200000。

c. 纯化抗体　　将样本以 1×PBST 稀释至 200 ng/mL，推荐稀释浓度为 20 ng/mL-1 μg/mL。

3. 单克隆抗体亚型鉴定

a. 将待测样本适当稀释加入板条样品孔中，50 μL/孔。

contact us:
USA: proteintech@ptglab.com
UK & europe: europe@ptglab.com
China: Proteintech-CN@ptglab.com

b. 无需孵育，将 1×羊抗鼠 IgM+IgG-HRP 加入样品孔中，50 μL/孔。混匀器上轻轻混匀，也可用手轻轻敲击板架两侧 1 min。

c. 盖上封板膜，室温孵育 1 h。

d. 弃去孔内液体，1×PBST 洗板 3 次，吸水纸上拍干。

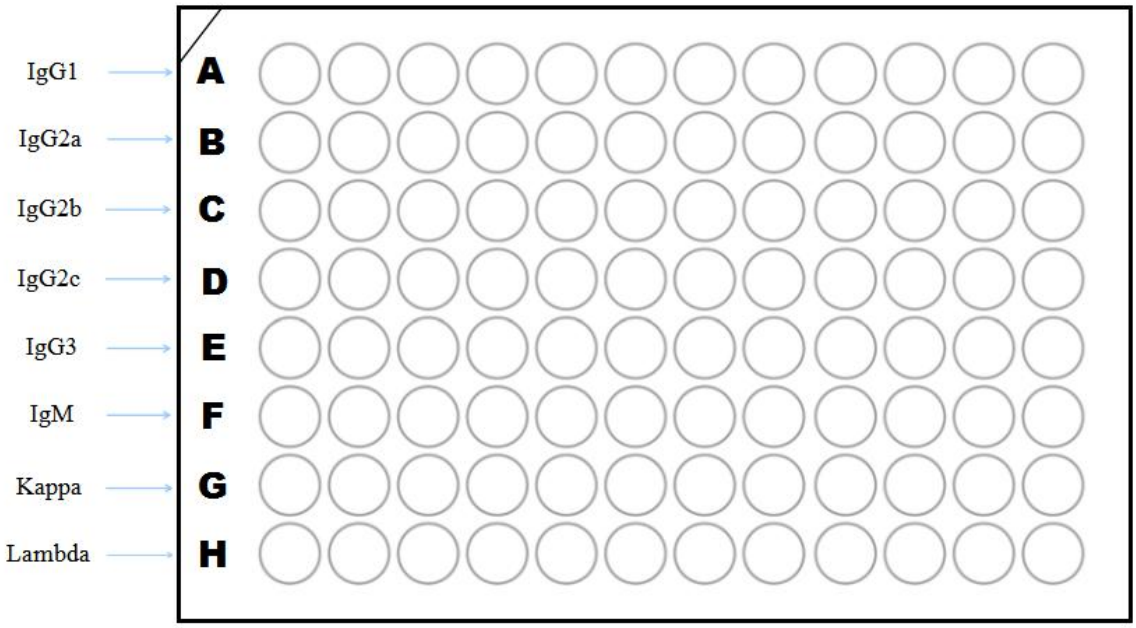
e. 将现配的显色液加入孔中，100 μL/孔。

注：显色液配方，A 液：B 液=1:100，即 10 μ L A 液与 1 mL B 液混合，混匀后立即使用。

f. 室温避光显色 10-20 min。每孔加入终止液，100 μL/孔。

g. 结果判读。结果可以对照下图以肉眼判定，也可以通过酶标仪读取 OD450。颜色最深或是 OD 值最高孔对应的即为相应亚型。

注：每个样本应该在 A-F 中有一个阳性孔（即是样本重链类型），G 和 H 中有一个阳性孔（即是样本轻链类型）。



注意事项

1. 显色液应临用前配制，即配即用。显色液 A 液应避光保存。
2. 余下板条应密封保存。如短期不用，可置于-20°C 保存。

常见问题与解决方案

常见问题	可能原因	解决方案
多种重链结果	腹水中有杂抗体	将腹水样本至少 1:100000 稀释
	样本中抗体浓度过高	再将样本 1:2-1:10 稀释
	杂交瘤细胞中含有多种细胞系	亚克隆杂交瘤细胞
显色较慢或颜色较弱	样本中抗体浓度低	减少稀释倍数；延长显色时间
结果难以判定	多种重链或轻链结果	再将样本 1:4 或 1:8 稀释后重新检测