

## 产品成分

Catalog No. PK20002	2*96孔	5*96孔
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	20 mL × 2
100× 羊抗鼠 IgM+IgG-HRP (Goat Anti-Mouse IgM+IgG-HRP)	120 uL	300 uL
显色液 (TMB Substrate) A 液	240 uL	600 uL
显色液 (TMB Substrate) B 液	24 mL	30 mL × 2
终止液 (Stop Solution)	24 mL	30 mL × 2

## 包装规格

192T/480T

## 保存条件

该试剂盒在低温下运输, 在未开封情况下, 4°C保存6个月 或者 -20°C保存12个月, 开封之后, 1周内用完。

## 使用方法

**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。

- 1×PBST: 10 mL 20×PBST + 190 mL 超纯水
- 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。
- 1×羊抗鼠 IgM+IgG-HRP: 10 uL 100×羊抗鼠 IgM+IgG-HRP + 990 uL 1×PBST

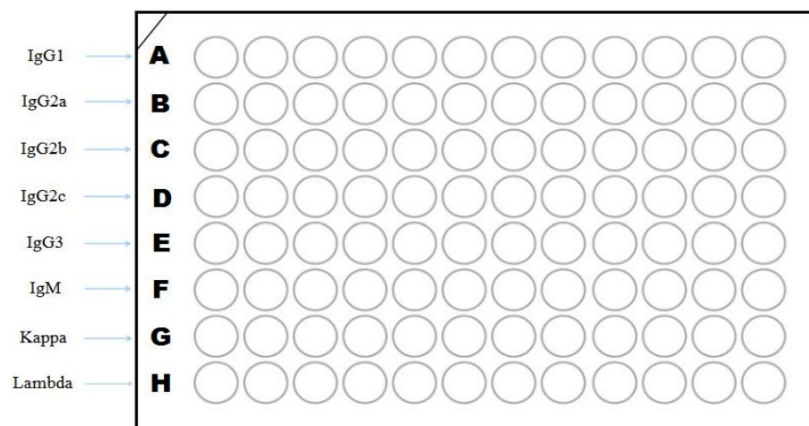
**2. 样本准备**

- 杂交瘤细胞上清: 将样本以 1×PBST 1:100 稀释, 例如 10 uL 杂交瘤细胞上清 + 990 uL 1×PBST。推荐稀释范围为 1:20-1:200。
- 腹水: 将样本以 1×PBST 1:100000 稀释, 例如 1 uL 腹水 + 1 mL 1×PBST (1:1000), 再取上述混合液 5 uL + 495 uL 1×PBST。推荐稀释范围为 1:50000-1:200000。
- 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 ug/mL。

**3. 单克隆抗体亚型鉴定**

- 将待测样本适当稀释加入板条样品孔中, 50 uL/孔。
- 无需孵育, 将 1×羊抗鼠 IgM+IgG-HRP 加入样品孔中, 50 uL/孔。混匀器上轻轻混匀, 也可用手轻轻敲击板架两侧 1 min。
- 盖上封板膜, 室温孵育 1 h。
- 弃去孔内液体, 1×PBST 洗板 3 次, 吸水纸上拍干。
- 将现配的显色液加入孔中, 100 uL/孔。  
注: 显色液配方, A液: B液=1:100, 即 10 uLA液与 1 mL B液混合, 混匀后立即使用。
- 室温避光显色 10-20 min。每孔加入终止液, 100 uL/孔。
- 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

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。

## 常见问题和解答：

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