

## ELISA - Häufig gestellte Fragen

### 1. Wie sind die Stabilitäten der HRP-Konjugate aus PeproTech's ELISA Development Kits?

Das Avidin-HRP aus den ABTS-Kits ist bei 2-8°C für einen Monat stabil und bei -20°C für 2 Jahre.

Das Streptavidin-HRP aus den TMB-Kits ist bei 2-8°C für mindestens 6 Monate stabil.

### 2. Wie kann ich Angaben zur Kreuzreaktivität für ein Kit finden?

PeproTech führt mit den ELISA Development Kits im eigenen Hause lot-spezifische Kreuzreaktivitätstests durch. Die Ergebnisse aus diesen Testungen finden sich auf dem Datenblatt der Kits.

### 3. Gibt es einen Schritt im ELISA-Protokoll, der über das Wochenende stehen gelassen werden kann?

Die Platte kann am Freitag mit dem Fängerantikörper beschichtet, und übers Wochenende bei 4°C gelagert werden, um sie dann am Montag weiter zu bearbeiten. Bitte beachten: Änderungen der Inkubationszeiten können zwischen den Platten zu abweichenden Messwerten führen.

### 4. Sind PeproTech's EDK's für alle Probentypen geeignet?

Obwohl PeproTech die Kits nicht mit jedem verfügbaren Probentyp getestet hat, sollten sie zumindest für folgende Probentypen geeignet sein: Serum, Plasma, Zellkulturüberstand, Urin und Speichel.

### 5. Ist eine Stopplösung notwendig, um die Reaktion zu stoppen?

Bei der Verwendung von Avidin-HRP + ABTS ist eine Stopplösung nicht erforderlich. Allgemein erhält man eine verlässliche Standardkurve, wenn die OD-Werte für den Leerwert unter 0,2 bleiben oder für den höchsten Standardwert 1,2 nicht übersteigen. Wenn eine Stopplösung gewünscht wird, kann 1% Natriumdodecylsulfat (SDS) benutzt werden um die Reaktion zu beenden. In PeproTech's Labor werden für ABTS-Kits keine Stopplösungen verwendet.

Für alle PeproTech TMB-Kits wird eine Stopplösung (1M HCl) empfohlen.

### 6. Können für die TMB-Kits zusätzlich zur Korrekturwellenlänge von 620nm auch andere Wellenlängen genutzt werden?

Mit TMB-EDK's können ebenfalls Korrekturwellenlängen von 540, 570, 620, oder 650nm genutzt werden.

### 7. Kann ich für PeproTech's ABTS-EDKs auch TMB verwenden?

PeproTech's ABTS EDKs sind für die Verwendung mit ABTS optimiert, und sollten daher am besten mit diesem Substrat verwendet werden. Das Kit kann trotzdem zusammen mit TMB verwendet werden, aber erst nach einigen Anpassungen:

- Das Avidin-HRP aus dem Kit kann nicht mit TMB verwendet werden; Streptavidin muss separat bestellt werden.
- Die Verdünnung des Streptavidin muss optimiert werden.
- Generell ist eine Stopplösung notwendig, um Streptavidin + TMB zu verwenden. Siehe Datenblatt des Herstellers.
- Die TMB Inkubationszeit vor dem Hinzufügen der Stopplösung muss optimiert werden.
- Bei der Verwendung der empfohlenen Platten, muss bei 450nm mit einer Korrekturwellenlänge von 620nm gemessen werden.

### 8. Warum wurde den EDK-Komponenten D-Mannitol hinzugefügt?

Den EDK-Komponenten wurde D-Mannitol hinzugefügt, um das Protein und die Antikörper sichtbar zu machen. Es verändert die ELISA-Resultate nicht.

### 9. Kann ich die Kurve auf dem EDK-Datenblatt als meine Standardkurve verwenden?

Für jede ELISA-Platte muss eine separate Standardkurve gefahren werden. In anderen Worten kann die Kurve von einer Platte nicht für eine andere verwendet werden. Die Kurve, die PeproTech in seinem Labor gemessen und auf dem EDK-Datenblatt angegeben hat, dient nur der Veranschaulichung.

### 10. Wie generiert PeproTech seine Standardkurve?

Wenn in PeproTech's Labor ein ELISA durchgeführt wird, verwenden wir ein Molecular Devices® Plattenlesegerät und die SOFTmax® PRO Software. Dieses Programm verwendet die erhaltenen Messwerte und generiert daraus eine 4-Parameterkurve. Hier ist die vom Programm genutzte Formel:

4-P Fit:

$$y = \frac{A - D}{1 + \left(\frac{x}{C}\right)^B} + D$$

x = Konzentration (pg/ml)  
y = O.D. (405nm – 650nm)  
A, B, C, & D entsprechen den 4 Parametern.\*

\*Für detailliertere Informationen zu den Parametern kontaktieren Sie bitte die Qualitätssicherung.