



# ELISA Q&A

## 1. ELISA

### Q: ELISA 검사는 무엇이고 어떤 목적으로 사용합니까?

ELISA는 **E**nzyme-**L**inked **I**mmuno**s**orbent **A**ssay의 약자로서 효소를 이용한 항체-항원 반응의 원리를 이용하여 원하는 항원 또는 항체의 정량 또는 정성 검사를 위해 사용되는 아주 정밀하고 정확한 실험 기법입니다.

### Q: ELISA 검사 방법은 어떠한 종류들이 있습니까?

일반적으로 가장 많이 사용되는 sandwich 방법이 있고 competitive, direct, indirect 방법이 있습니다.

### Q: 다음의 방법들의 원리는 무엇입니까?

**Sandwich ELISA:** 미지의 samples에 들어 있는 항원의 농도를 결정할 때 사용합니다. 96 microplate well에 일차 항체를 코팅 (capture antibody)하고 standards or samples을 처리합니다. 고정된 standards or samples에 특이적인 이차 항체 (detection antibody)를 처리합니다. 고정된 capture antibody-standards or samples-detection antibody에 부착할 수 있는 효소 (HRP or AP)가 결합된 물질을 처리합니다. 효소와 기질용액의 반응으로 optical density를 확인합니다.

**Competitive ELISA:** 미지의 samples에 들어 있는 항원의 농도를 결정할 때 사용합니다. 96 microplate well에 일차 항체를 코팅 (capture antibody)하고 standards or samples을 처리합니다. standards or samples과 제한된 수의 효소(HRP or AP)가 결합된 단백질이 경쟁적으로 capture antibody에 결합합니다. 효소와 기질 용액의 반응으로 optical density를 확인합니다.

**Direct ELISA:** 96 microplate well에 standards or samples을 coating합니다. 고정된 standards or samples에 효소가 결합된 특이적인 항체가 결합합니다. 효소와 기질 용액의 반응으로 optical density를 확인합니다.

**Indirect ELISA:** 96 microplate well에 standards or samples을 coating합니다. 고정된 standards or samples에 특이적인 항체가 결합합니다. 고정된 standards or samples-antibody에 효소가 결합된 이차 항체 또는 물질을 처리합니다. 효소와 기질 용액의 반응으로 optical density를 확인합니다.

### Q: OD 결과가 온도(계절)에 따라 영향을 받을 수 있는지요?

약간의 영향을 받을 수 있습니다.

### Q: Standard curve를 늘려서 그릴 수 있나요?

모든 ELISA kit는 각 specific range와 sensitivity를 가지고 있고 그 range 안에서만 reproducibility

을 믿을 수 있기 때문에 range를 벗어난 standards는 정확하다고 말할 수 없습니다.

**Q: Human Quantikine ELISA kits에 대한 control set는 판매되고 있습니까?**

네. Human ELISA kit의 경우 별도로 판매하고 있습니다.

**Q: R&D systems 제품에 타회사 standard 제품 사용 가능한가요?**

Guarantee 하지 않습니다.

**Q: Complete kit 사용 시 사용한 standard를 보관하였다가 재사용하려고 한다. 보관을 어떻게 해야 하나요?**

한 번 reconstitution 한 제품은 분주하여 - 70 C에 보관하고 하나씩 꺼내서 사용하시면 됩니다. 얼렸다 녹였다 반복하지 마십시오.

**Q: 1 kit (96 well plate) 당 몇 samples까지 측정이 가능한가요?**

Duplication으로 실험하실 경우, 40 samples까지 가능합니다.

**Q: Reference 파장을 꼭 읽어야 하는지와 그 이유는?**

Reference 파장은 96 microplate well의 울통불통한 정도를 측정하는 파장으로서 메인 파장에서 reference 파장을 뺀 OD 값으로 좀 더 정확한 결과를 얻으실 수 있습니다.

**Q: Quantikine kits에 tissue homogenates samples을 사용할 수 있는지요?**

일반적인 Quantikine kits에는 sample type으로 tissue homogenates를 validation 하지 않았습니다. 따라서 샘플 적용을 위해서 가장 이상적인 방법은 spike and recovery test를 수행해야만 합니다. 방법에 대해서는 관련 protocol을 참조해 주세요.

**Q: Quantikine kit끼리 wash buffer 상호 사용 가능한가요?**

같은 part number를 가지고 있다면 상호 사용 가능합니다.

**Q: ELISpot은 ELISA와 어떻게 다른가요?**

두 방법 모두 정량적인 sandwich ELISA 입니다. ELISA의 경우, cell에서 matrix (serum, plasma, conditioned media 등)로 이미 분비된 protein의 농도를 측정하는 방법이고, ELISpot의 경우, cell을 plate에 culture하고 고정된 capture antibody에 즉시 분비된 protein을 측정하는 방법입니다. Cytokines 분비 위치를 색으로 확인 가능합니다.

**Q: Animal Quantikine ELISA kits는 1 kit 당 몇 샘플까지 측정이 가능한가요?**

Mouse & Rat Quantikine ELISA kits의 경우, standard curve, control을 제외하고 duplicate로 수행하였을 때 39 samples까지 가능합니다.

**Q: Human Quantikine ELISA kits는 1 kit 당 몇 샘플까지 측정이 가능한가요?**

대부분의 human Quantikine ELISA kits의 경우, standard curve를 제외하고 duplicate로 수행하였을 때 40 samples까지 가능합니다.

**Q: Parameter ELISA kits는 1 kit 당 몇 샘플까지 측정이 가능한가요?**

Parameter ELISA kits의 경우, 7-point standard curve, NSB를 제외하고 duplicate로 수행하였을 때 39 samples 가능합니다.

**Q: Quantikine과 QuantiGlo ELISA kit의 차이점은 무엇인가요?**

Quantikine ELISA kits는 colorimetric assay로서 microplate reader가 필요합니다. 반면 QuantiGlo ELISA kits는 빛의 강도를 측정하는 Lumino based assay로서 Luminometer를 필요로 합니다. R&D systems는 Dynex Technologies and Molecular Device luminometers로 디자인 되어 있습니다. Black microtiter plates의 변화는 다양한 luminometers의 사용이 가능하게 되었습니다. QuantiGlo assay는 Quantikine assay보다 더 민감하고 넓은 range를 측정할 수 있다는 장점이 있습니다.

**Q: Regular Quantikine ELISA kits와 High sensitivity Quantikine ELISA kits의 차이점은 무엇인가요?**

High sensitivity Quantikine ELISA kits는 Quantikine ELISA kits와 비교하여 매우 낮은 농도의 cytokines을 측정하기 위한 제품입니다. 둘 중 하나를 선택하기 위해서는 관련 문헌을 찾아보시고 선택하시기 바랍니다.

**Q: ELISA 실험에서 샘플 희석이 필요한 이유는 무엇인가요?**

첫번째는 assay의 range에 들어가도록 reading 하기 위해서는 희석이 필요합니다.  
두번째는 샘플 안의 interference 또는 matrix 영향을 최소화하기 위해 필요합니다.

**Q: Assay diluent의 첨가가 샘플의 더 많은 희석을 야기하지는 않나요?**

Assay diluent는 모든 wells에 첨가되기 때문에 standards와 샘플에 동등한 조건이 됩니다. 따라서 샘플 농도는 assay diluent의 희석의 적용 없이 standard curve로부터 구할 수 있습니다.

## 2.Development Systems

**Q: Duoset 사용 시 capture antibody를 reagent diluent에 녹여도 되는지요?**

아니요. Reagent diluent에는 BSA가 포함되어 있기 때문에 BSA가 항체 coating을 방해할 수 있습니다.

**Q: Duoset 사용 시 wash buffer, reagent diluent stock 제품들은 어떤 물질에 희석해야 하나요?**

DW에 희석합니다. Package insert를 확인하시기 바랍니다.

**Q: Duoset 사용 시 reagent diluents 만들어서 사용할 경우, 추천하는 BSA는 무엇인가요?**

Millipore

Bovine Serum Albumin, Fraction V, Protease free (Catalog # 82-045)

**Q: Plate coating 후, 보관 방법, 기간, 온도는?**

Coating-washing-blocking-washing 과정 후에 plate를 1시간 정도로 잘 dry 하신 후에, 은박 파우치에 건조제 (실리카겔)를 넣어서 잘 밀봉한 후에 냉장에서 2달 동안 보관 가능합니다.

습기가 들어갈 경우, BSA로 인해 곰팡이 등이 생길 수 있으니 반드시 은박 파우치에 건조제를 넣어 밀봉하실 것을 권장합니다.

**Q: Duoset은 무엇인가요?**

Duoset ELISA system은 15개의 96-well plates에 사용 가능한 capture antibody, detection antibody, standard, 그리고 streptavidin-HRP로 구성되어 있습니다. R&D systems는 이 system에 사용을 권장하는 시약들과 plates를 판매하고 있습니다. 이 systems은 cell culture supernates로 디자인된 제품입니다.

**Q: Duosets과 Matched Antibody Pairs에서 R&D가 추천하는 ELISA plates는 무엇인가요?**

Costar (cat# 2592)의 ELISA plates를 권장합니다. 이 plates는 Duoset의 구성품으로 판매되고 있고 clear microtiter plates(cat# DY990)와 black microtiter plates(cat# DY991)로 나뉩니다.

EvenCoat 제품으로서, goat anti-mouse IgG microplates (cat# CP001 & CP002)가 있습니다. 이 plates는 mouse IgG의 Fc region에 specific한 goat antibody로 coating된 clear, pre-blocked 96-well polystyrene microplates입니다. EvenCoat microplates는 대부분의 Duoset ELISA development kits에 이용될 수 있습니다.