

Human Insulin ELISA Kit

胰岛素 ELISA 试剂盒

产品编号: EK7000

规格: 96T

检测范围: 10 mIU/ml → 100 mIU/ml

敏感性: <2mIU/ml

特异性: 系统和其它细胞因子无交叉反应。

保存: 2-8℃ (频繁使用时); -20℃ (长时间不用时)。

有效期: 6个月(4℃); 12个月(-20℃)。

用途: 用于体外定量分析人血清。

工作原理

胰岛素 (Insulin, 简称INS), 是由胰岛β细胞合成其前体, 经加工后分泌的蛋白质激素, 它由51个氨基酸组成α、β两条肽链, 通过两个二硫键连结在一起, 分子量为5734D[1]。不同种属动物的胰岛素与人胰岛素结构略有不同, 猪胰岛素结构与人的最相似, 只是在β链上的最后一个氨基酸不同, 因此两者在免疫分析中有明显的交叉反应。

胰岛素是促进合成的激素, 主要作用是促进葡萄糖的氧化和糖原生成, 抑制糖原异生, 从而维持血糖恒定。胰岛素缺乏时, 血糖浓度升高, 可超过肾糖阈, 发生依赖胰岛素糖尿病。

博士德所提供的人 Insulin ELISA Kit 是典型夹心法酶联免疫吸附测定试剂盒 (Enzyme Linked-Immuno-Sorbent Assay, ELISA)。预先包被的抗体为单克隆抗体, 检测抗体也为单克隆抗体, 经 HRP 标记。样品和酶标记抗体先后加入酶标板孔反应后, 经过洗液的彻底洗涤后用底物 TMB 显色。TMB 在过氧化物酶的催化下转化成蓝色, 并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和样品中的人 Insulin 呈正相关。

试剂盒中内容 (96 孔)

内容	规格	数量
标准品 (S ₁ ~S ₅)	-	5瓶
酶标抗体	6ml	1瓶
质控	-	2瓶
显色剂A	7ml	1瓶
显色剂B	7ml	1瓶
终止液	7ml	1瓶
20X洗液	15ml	1瓶
预包被板	96孔	1块
封板膜		4张

注意: 使用前请检查试剂盒中试剂的标签和数量与表格是否一致

需要而未提供的试剂和器材

1. 标准规格酶标仪。
2. 自动洗板机。
3. 恒温箱
4. 系列可调节移液器及吸头，一次检测样品较多时，最好用多通道移液器。
5. 干净的试管和 Eppendorf 管。

注意事项

2. 用户在初次使用试剂盒时，应将各种试剂管离心数分钟，以便试剂集中到管底。
3. 要严格避免操作过程中酶标板干燥。干燥会使酶标板上生物成份迅速失活。
4. 为免交叉污染，要避免重复使用手中的吸头和试管。
5. 禁止混用不同批次试剂盒内的试剂。
6. 本公司提供的 96 孔酶标板是单条可拆型酶标板，用户可按需求使用；剩余的酶标板请按保存条件贮存。
7. 揭封板膜和覆盖封板膜时应避免用力过大导致液体溅出。
8. 使用前，试剂盒中试剂需平衡至室温

洗板方法

手工洗板方法：吸去（不可触及板壁）或甩掉酶标板内的液体；在实验台上铺垫几层吸水纸，酶标板朝下用力拍几次；将洗涤缓冲液至少 0.3ml 注入孔内，浸泡 1-2 分钟。根据需要，重复此过程数次。

自动洗板：如果有自动洗板机，应在熟练使用后再用到正式实验过程中。

样品的准备和保存

样品如果不立即分析，应分装后冷冻保存，且避免反复冻融。

血清——用干净试管收集血液，凝固 2 小时后离心 $1000 \times g$ 15 分钟，收集血清。立即分析或分装后 -20°C 冷冻保存。

操作程序

1. 将各种试剂移至室温平衡半小时，取浓缩洗涤液，用蒸馏水 1: 20 稀释，混匀后备用。
2. 将 S1-S5 及质控品先用 0.5ml 蒸馏水溶解，充分摇匀，放置 10min 后使用。
3. 将标有 10mIU/ml, 16mIU/ml, 30mIU/ml, 60mIU/ml, 100mIU/ml 的标准品各 50ul 依次加入每孔。其余每个检测孔直接加质控品或待测血清 50ul。
4. 然后每孔加入酶标抗体 50ul。
5. 充分混匀，贴上封板膜。置 37°C 反应 60 分钟。
6. 洗液洗涤 3 次，每次浸泡 1 分钟左右（每孔洗液至少 300ul）。
7. 按每孔依次加显色液 A 液 50ul，B 液 50ul，震荡混匀， 37°C 避光反应 15-20 分钟（注意：显色时间供参考，因用户实验室条件差异，最佳显色时间会有所不同。）。
8. 按每孔 50ul 依次加入终止液，此时蓝色立转黄色。
9. 用酶标仪在 450nm 测定 O.D.值。



有两种设定空白对照的方案:

(1) 将 TMB 空白显色孔(只加 TMB 显色液和终止液)设为对照。所有的标准品和样品的吸光值减去 TMB 空白显色孔的吸光值后,在坐标纸上画出曲线,以吸光值作为纵坐标,以浓度作为横坐标。

(2) 将零孔设为对照。所有的标准品和样品的吸光值减去零孔的吸光值后,得到的数据可以直接在坐标纸上画出曲线。

操作程序总结:

1. 加样品和标准品, 每孔 50ul。
2. 然后加酶标记抗体, 每孔 50ul
3. 震荡混匀, 37℃ 反应 60 分钟。
4. 洗液洗涤 3 次。
5. 加 TMB 显色剂 A 液, B 液各 50ul
6. 震荡混匀后, 37℃ 反应 15-20 分钟。
7. 加入终止液 50ul, 读数。