

人瘦素（Leptin）ELISA Kit

Catalog Number: bsk11027

本试剂盒用于定量检测人血清、血浆或细胞培养上清液等样本中瘦素（Leptin）含量。**使用前请仔细阅读说明书并检查试剂组分**，如有任何疑问请与北京博奥森生物技术有限公司联系，公司将为您提供强有力的技术支持。

仅供研究，不用于临床诊断。

目录

检测原理.....	3
试剂盒组成.....	3
其它实验材料.....	3
注意事项.....	4
样本收集、处理及保存方法.....	4
试剂准备.....	5
操作步骤.....	5
结果判断.....	6
试剂盒性能.....	7
检测范围.....	7
灵敏度.....	7

检测原理:

本试剂盒采用 ELISA 双抗体夹心法原理。用纯化的瘦素(Leptin)抗体包被微孔板, 向已包被的板微孔中依次加入标准品及待测样本, 待其与包被抗体充分结合后, 再与生物素化的 Leptin 抗体结合, 其后加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的链霉亲和素, 生物素与链霉亲和素形成高强度的非共价结合, 经过彻底洗涤后加入底物 TMB 显色。TMB 在 HRP 酶的催化作用下转化成蓝色, 并在酸的作用下最终转化成黄色。颜色的深浅和样本中的 Leptin 含量呈正相关。用酶标仪在 450nm 波长下测定吸光值(OD 值), 通过绘制标准曲线计算样本中 Leptin 浓度。

试剂盒组成:

试剂盒组成	规格(96T)	保存条件
抗体包被板条	8×12	2-8℃保存
标准品	2支	2-8℃保存
S1 标准品/样本稀释液	16 ml×4 瓶	2-8℃保存
浓缩生物素化抗体(100×)	60 μl×2 瓶	2-8℃保存
S2 生物素化抗体稀释液	16ml×1 瓶	2-8℃保存
浓缩酶结合物(100×)	60 μl×2 瓶	2-8℃保存
S3 酶结合物稀释液	16ml×1 瓶	2-8℃保存
浓缩洗涤液(20×)	25ml×1 瓶	2-8℃保存
显色底物(避光)	12ml×1 瓶	2-8℃保存
终止液	12ml×1 瓶	2-8℃保存
封板胶纸	4 张	
说明书	1 份	

其它实验材料(不提供, 但可协助购买):

- 1.酶标仪(主波长 450nm, 参考波长 630nm)
- 2.高精度可调移液器(已校准)及吸头: 0.5-10,2-20,20-200,200-1000μl。

一次检测样本较多时, 建议使用多通道移液器。

- 3.自动洗板机或洗瓶
- 4.37℃温箱
- 5.双蒸水或去离子水

6.坐标纸

7.量筒

注意事项:

- 1.试剂盒保存在 2-8℃，已复溶但未用完的标准品，建议丢弃。不可混合使用不同来源或不同批号的试剂盒组分，请在有效期内使用本产品。
- 2.浓缩洗涤液低温取出可能会伴有结晶析出，稀释时可在水浴中加热助溶，不影响使用。
- 3.各步加样均应使用移液器，并经过校准，以免产生误差。建议一次加样时间最好控制在 5 分钟内，如样本数量较多，推荐使用排枪加样。
- 4.请每次测定的同时做标准曲线，最好做复孔。如样本中待测物质含量高于试剂盒检测上限（样本 OD 值大于标准品孔第一孔的 OD 值），请先用样本稀释液稀释一定的倍数（n 倍）后再测定，计算时需乘以总稀释倍数。
5. 为避免交叉污染，在加入不同浓度的标准品、不同样本、不同试剂时谨记及时更换吸头，封板胶纸只限一次性使用。
- 6.浓缩酶结合物及显色底物请避光保存，显色底物在添加之前，应保持无色，请勿使用已变为蓝色的显色底物。
- 7.严格按照说明书的操作进行，试验结果判定必须以酶标仪读数为准。

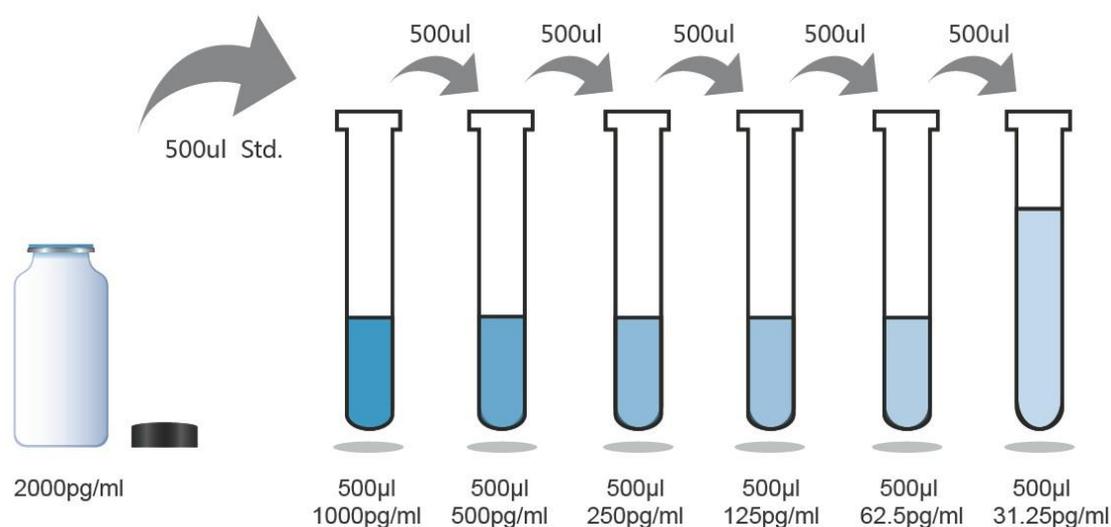
样本收集、处理及保存方法:

- 1.血清：室温血液自然凝固 30 分钟，离心 20 分钟（2000-3000 转/分）。仔细收集上清，若保存过程中出现沉淀，应再次离心，避免反复冻融。
- 2.血浆：根据样本的要求选择 EDTA 或柠檬酸作为抗凝剂，离心 20 分钟左右（2000-3000 转/分）。仔细收集上清，若保存过程中出现沉淀，应再次离心。
- 3.细胞上清液：检测分泌性的成分时，用无菌管收集。离心 20 分钟左右（2000-3000 转/分）。仔细收集上清。
- 4.若样本无法立即检测，请将其按最小使用量分装，-20℃—70℃保存，避免反复冻融。尽量避免使用溶血或高血脂样本。如果血清中含有大量颗粒，检测前先离心或过滤去除；室温下解冻，请勿于 37℃或更高的温度加热解冻。
- 5.不能检测含 NaN₃ 的样本，因 NaN₃ 抑制辣根过氧化物酶的活性。
- 6.请根据实际情况，将样本做适当倍数稀释（建议根据预试验结果确定稀释倍数）。

注：正常人血清或血浆样本中 Leptin 含量个体差异较大，建议做 1：10 稀释较合适。

试剂准备:

- 1.试剂回温：请在实验前 30min 内，将试剂盒和待测样本置于室温下回温。
- 2.洗涤液配制：根据浓缩洗液的浓缩倍数，用双蒸水或去离子水进行相应倍数稀释后备用。
- 3.标准品梯度稀释：取 1ml 标准品/样本稀释液（S1）至冻干标准品中，静置 15 分钟待其完全溶解后轻轻混匀(浓度为 2000pg/ml)，然后取 6 只聚丙烯试管，各管加入 500 μ l 标准品/样本稀释液（S1），按照以下浓度进行 2 倍稀释：2000、1000、500、250、125、62.5、31.25pg/ml 进行稀释。2000pg/ml 为标准曲线最高点浓度，标准品/样本稀释液（S1）作为标准曲线的零点（0pg/ml）。复溶过的标准品原液（2000pg/ml）未用完的应废弃或根据需要按照一次用量分装，并将其贮存在-20~-80℃冰箱。



- 4.生物素化抗体工作液：根据试验所需用量，用生物素化抗体稀释液（S2）将浓缩生物素化抗体（100 \times ）稀释成1倍应用工作液，请于30min内使用。
5. 酶结合物工作液：根据试验所需用量，用酶结合物稀释液（S3）将浓缩酶结合物（100 \times ）稀释成1倍应用工作液，请于30min内使用。

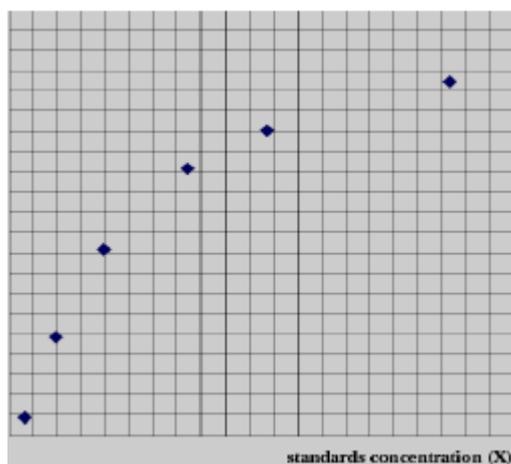
操作步骤:

- 1.加样：根据试验所需用量，取出相应抗体包被板条，并增加 1 孔作为空白对照孔，分别将已配制好的标准品、标准品零点（S1）及待测样本以 100 μ l/孔加入实验孔底部。
- 2.温育：用封板胶纸封板后置 37℃ 温育 90min（空白对照孔除外）。
- 3.洗涤：小心揭掉封板胶纸，弃去液体，甩干，每孔加满洗涤液（350 μ l），静置 30 秒后弃去，如此重复 4 次，最后于吸水纸上拍干。
- 4.加生物素化抗体：每孔加入生物素化抗体应用工作液 100 μ l(空白对照孔除外)。
- 5.温育：用封板胶纸封板后置 37℃ 温育 60 min (空白对照孔除外)。

- 6.洗涤：同上述洗涤过程（步骤3），洗板4次。
- 7.加酶结合物：每孔加入酶结合物应用工作液 100 μ l(空白对照孔除外)。
- 8.温育：用封板胶纸封板后置 37 $^{\circ}$ C温育 30min(空白对照孔除外)。
- 9.洗涤：同上述洗涤过程（步骤3），洗板4次。
- 10.显色：每孔加入 100 μ l 显色底物，用封板胶纸封板后置 37 $^{\circ}$ C显色 10-20min。
- 11.终止：每孔加终止液 100 μ l（此时蓝色立转黄色）。
12. 测定：用酶标仪 450nm 波长测定各孔的吸光度（OD 值），测定应在加终止液后 5min 以内进行。

结果判定：

- 1.每个标准品和样本的 OD 值减去空白孔的 OD 值，为最终数值，如果做复孔,求其平均值。
2. 使用计算机软件以吸光度 OD 值为纵坐标(Y),相应的 Leptin 标准品浓度为横坐标(X),生成相应的标准曲线,样本的 Leptin 含量可根据其 OD 值由标准曲线换算出相应的浓度。若样本 OD 值高于标准品曲线上限，请做适当倍数稀释，计算样本浓度时需乘以相应稀释倍数。



本图仅供参考，应以同次试验标准品所绘标准曲线为准

试剂盒性能:

批内与批间差应小于 10%

检测范围:

31.25 pg/ml -2000 pg/ml

灵敏度:

15pg/ml