



# 马胰岛素酶联免疫检测试剂盒

Equine insulin immunoassay kit

✉ [info@ezassay.com](mailto:info@ezassay.com)

🌐 [www.ezassay.com](http://www.ezassay.com)

深圳易致生物科技有限公司

目录编号:EQ200

# 目录 CONTENTS

| 内容       | 页码 |
|----------|----|
| 检测原理     | 1  |
| 试剂盒组成    | 1  |
| 检测所需必备物品 | 1  |
| 储存       | 2  |
| 试剂配制     | 2  |
| 样本处理     | 2  |
| 检测步骤     | 2  |
| 计算       | 3  |
| 标准曲线示例   | 3  |
| 试剂盒性能    | 4  |
| 检测步骤小结   | 4  |

## 检测原理

### Principal of the assay

本试剂盒采用以高特异性单克隆抗体为基础的夹心酶联免疫法来测定胰岛素。微孔板预先包被了用于捕捉抗原的单克隆抗体。检测过程中，先向微孔中加入辣根过氧化物酶（HRP）标记的检测抗体，然后加入标准品或待检测样品进行反应。洗涤后加入TMB底物与HRP发生显色反应，颜色的深浅与样品中胰岛素含量成正相关。在终止反应后，测量在450 nm波长下的吸光值，并根据标准曲线计算样品中胰岛素含量。

## 试剂盒组成

### Materials supplied

| 序号 | 产品                                 | 规格     |
|----|------------------------------------|--------|
| 01 | 微孔板 (Microplate)                   | 96孔    |
| 02 | 10x洗液(10xWash buffer)              | 20ml   |
| 03 | 分析稀释液(Assay buffer)                | 9ml    |
| 04 | 100x检测抗体溶液(100xDetection antibody) | 0.09ml |
| 05 | 胰岛素标准品 0 ng/ml                     | 1ml    |
| 06 | 胰岛素标准品 3 $\mu$ IU /ml              | 0.2 ml |
| 07 | 胰岛素标准品 7 $\mu$ IU/ml               | 0.2 ml |
| 08 | 胰岛素标准品 16 $\mu$ IU/ml              | 0.2 ml |
| 09 | 胰岛素标准品 40 $\mu$ IU/ml              | 0.2 ml |
| 10 | 胰岛素标准品 100 $\mu$ IU/ml             | 0.2 ml |
| 11 | 底物 (Substrate solution)            | 12ml   |
| 12 | 终止液 (Stop solution)                | 12ml   |
| 13 | 覆膜 (Plate sealer)                  | 1张     |

## 检测所需必备物品

### Other materials required

- 移液器和一次性吸头
- 蒸馏水或去离子水
- 试剂容器
- 吸水纸
- 多头移液器或微孔洗板机
- 酶标仪（可读450 nm波长）
- 水平微孔板振荡器（可达600 rpm）

## 储存

### Storage

收到试剂盒后应立即保存于2-8°C。未使用的微孔板应密封保存。拆封后，微孔板在2-8°C下可保存一个月。

## 试剂配制

### Preparation of reagents

- 1x洗液 (1xWash buffer)

将10x洗液（20 ml）与蒸馏水或去离子水（180 ml）均匀混合。1x洗液在2-8°C下可保存一月。

- 1x检测抗体溶液 (1xDetection antibody solution)

每孔需要70 µl的1x检测抗体溶液。临用前制备，按实际用量需要将100x检测抗体溶液与分析稀释液按适当比例均匀混合来制备1x检测抗体溶液。

## 样本处理

### Preparation of samples

标本例如血清和血浆通常情况下不需要稀释。如果样本中胰岛素含量高于最高标准品，可用0 ng/ml胰岛素标准品溶液将样本适当稀释后重复试验。

## 检测步骤

### Assay procedure

备注：微孔板和所有试剂必须待到室温后使用，每次检测必须作相应的标准曲线。建议所有的标准品和待测标本做平行试验。

- 每孔先加入70 µl的1x检测抗体溶液。
- 加入20 µl的标准品或待测样本到相应的孔中，用覆膜将孔板密封后放置水平微孔板振荡器上，室温600 rpm振动1小时。（如果没有水平微孔振荡器，请轻拍96孔板使液体混匀，然后在室温静止1.5小时）
- 倒掉孔板中液体，然后在干净的吸水纸上拍干孔板。每孔加入300 µl的1x洗液，室温放置30秒。
- 倒掉洗液，然后在干净的吸水纸上拍干孔板。重复上述洗板过程共计4次。
- 每孔加入100 µl的底物，室温避光放置15分钟。
- 每孔加入100 µl的终止液，轻弹孔板的边缘使孔内溶液充分混匀。立即测量在450 nm波长下的吸光值。

## 计算

### Calculation

- 先将各标准品及样本的吸光值扣除空白孔的吸光值。
- 以标准品的吸光值为纵坐标,浓度为横坐标。标准曲线可用数据分析软件得到。建议使用4参数法或对数模型做回归分析。
- 根据标准曲线计算样本中胰岛素浓度。
- 换算公式:  $1 \mu\text{IU/ml} = 0.0348 \text{ ng/ml}$

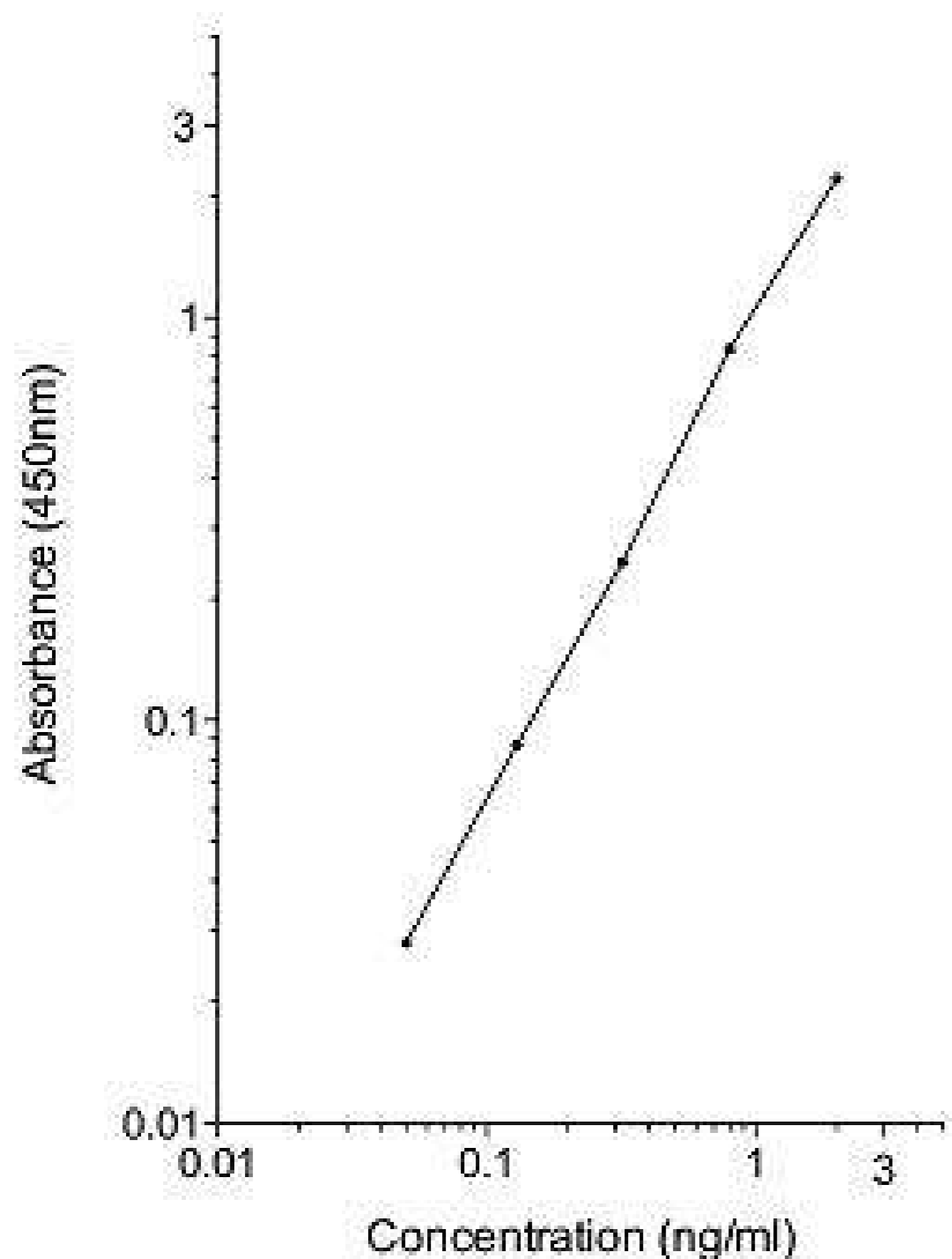
## 标准曲线示例

### Typical standard curve

备注：以下标准曲线仅供示范，不可用于实际计算。每次检测都应作相应的标准曲线，实际的吸光值会因应不同的产品批次和实验环境有所变化。

| 胰岛素标品(ng/ml) | 吸光值(450 nm) | 扣除空白后的吸光值 |
|--------------|-------------|-----------|
| 0            | 0.054       | 0         |
| 3            | 0.085       | 0.031     |
| 7            | 0.14        | 0.086     |
| 16           | 0.32        | 0.266     |
| 40           | 0.939       | 0.885     |
| 100          | 2.521       | 2.467     |

## 胰岛素标准曲线（对数坐标）



## 试剂盒性能

### Assay characteristics

#### A. 精密度

批内检测精密度(同次检测内精密度)变异系数<10%

批间检测精密度(不同次检测间精密度)变异系数<10%

#### B. 特异性

交叉反应百分比

小鼠胰岛素 100%

大鼠胰岛素 100%

## 检测步骤小结

### Summary of the assay procedure

- 1.每孔加入 70  $\mu$ l 的 1x检测抗体溶液
- 2.相应孔中加入20  $\mu$ l的标准品或样本
- 3.室温振动1小时(600 rpm)
- 4.洗板 4次
- 5.每孔加入 100  $\mu$ l 的底物
- 6.室温放置15分钟
- 7.每孔加入100  $\mu$ l的终止液
- 8.测量吸光值 (450 nm)
- 9.计算

## 常见问题及解决方法

### Frequently Asked Questions with Answers

#### Q1: 如何选择超敏、高敏和广域胰岛素试剂盒?

| 名称              | 货号          | 检测范围  | 样品量        | 应用示例*            |
|-----------------|-------------|---|------------|------------------|
| 超敏小鼠/大鼠胰岛素ELISA | MS100/RT100 | 0.05-2 ng/ml  | 10 $\mu$ l | 禁食超过8小时          |
| 高敏小鼠/大鼠胰岛素ELISA | MS200/RT200 | 0.2-6.9 ng/ml   | 5 $\mu$ l  | 普通动物模型           |
| 广域小鼠/大鼠胰岛素ELISA | MS300/RT300 | 1-40 ng/ml  | 5 $\mu$ l  | 胰岛或 $\beta$ 细胞分泌 |
| 人胰岛素ELISA       | HM200       | 3-100 $\mu$ IU/ml<br>(1 $\mu$ IU/ml=<br>0.0348 ng/ml) | 20 $\mu$ l | 普通人的样本           |

#### Q2: 若底物变蓝能否继续使用?

- 在使用前应先查看底物是否为无色透明液体，如果出现变色则不能继续使用。
- 如果一次使用10个孔，建议使用前，吸取1100 $\mu$ l (100 $\mu$ l \* 11孔)，单独放置。避免反复从棕色瓶中取样，造成交叉污染。

#### Q3: 如何换算胰岛素单位?

- 1ng/ml \* 172.18 = 1 pmol/L
- 1  $\mu$ IU/ml = 0.0348 ng/ml

#### Q4: 溶血样品对胰岛素检测是否有干扰?

- 有干扰。特别是要避免重度溶血样品。溶血标本会造成检测数值偏低。轻度溶血干扰不大。建议：尾巴采血时，避免用力按压。针筒抽血后，应把针头去掉再把血液样品打出。