

## 人的内脏脂肪素ELISA检测试剂盒 货号: EKH124-P

本试剂盒仅供科研使用。**使用前请仔细阅读说明书并检查试剂组分是否完整。**如有产品包装破损或质量投诉,请在收到货一个月之内联系我们。如有其它疑问请登录中乔新舟公司网站或致电本公司。

### 1、VISFATIN简介:

内脏脂肪素 (Visfatin), 也被称为PBEF和MAMPT, 是II型磷酸核糖基转移酶, 通常以二聚体存在, 是哺乳动物的NDA的限制酶, 烟酰胺核苷酸磷酸核糖基转移酶的分泌型, 在胰岛B细胞分泌胰岛素中起关键作用。内脏脂肪素是一个分子量为52千道尔顿的细胞因子。人的内脏脂肪素与小鼠和大鼠的内脏脂肪素分别有96%和95%的同源性。人的内脏脂肪素在骨基质, 肝脏和肌肉组织中高表达, 但在胰岛, 肾脏, 心脏和肺里表达水平比较低。

人的内脏脂肪素已被证明与几种炎症性疾病密切相关, 包括内风湿, 骨关节炎, 炎症肠病和脓毒症等。在许多类型肿瘤中也观察到内脏脂肪素大量表达。最近, 两个相关性研究表明, 在2型糖尿病的病人血清或血浆中, 内脏脂肪素显著升高, 表明检测血浆中内脏脂肪素有助于弄清这类代谢性疾病。

### 2、检测原理:

本试剂盒采用双抗体夹心ELISA法检测样本中VISFATIN 的浓度。VISFATIN 捕获抗体已预包被于酶标板上, 当加入标本或参考品时, 其中的VISFATIN 会与捕获抗体结合, 其它游离的成分通过洗涤的过程被除去。当加入生物素化的抗人VISFATIN 抗体后, 抗人VISFATIN 抗体与VISFATIN 接合, 形成夹心的免疫复合物, 其它游离的成分通过洗涤的过程被除去。随后加入辣根过氧化物酶标记的亲合素。生物素与亲合素特异性结合, 亲合素连接的酶就会与夹心的免疫复合物连接起来; 其它游离的成分通过洗涤的过程被除去。最后加入显色剂, 若样本中存在VISFATIN 将会形成免疫复合物, 辣根过氧化物酶会催化无色的显色剂氧化成蓝色物质, 在加入终止液后呈黄色。通过酶标仪检测, 读其450nm处的OD值, VISFATIN 浓度与OD450值之间呈正比, 通过参考品绘制标准曲线, 对照未知样本中OD值, 即可算出标本中VISFATIN 浓度。

### 3、试剂盒组成:

组分	规格 (96T/48T)
人VISFATIN预包被板	12条/6条
样本分析缓冲液	5ml/3ml
标准品稀释液	10ml/5ml
人VISFATIN标准品	2/1支(冻干)
人VISFATIN生物素化抗体	10ml/5ml
亲和素连接的HRP酶	10ml/5ml
浓缩洗涤液 20×	30ml/15ml
TMB底物	10ml/5ml
中止液	5ml/3ml
封板胶纸	3/2张
说明书	1份

### 4、样本收集:

1. 标本的收集请按下列流程进行操作;
  - A. 细胞上清标本离心去除悬浮物后即可;
  - B. 血清标本应是自然凝固后, 取上清, 避免在冰箱中凝固血液;
  - C. 血浆标本, 推荐用EDTA的方法收集
  - D. 若待测样本不能及时检测, 标本收集后请分装, 冻存于 - 20°C, 避免反复冻融。
2. 血清标本不应添加任何防腐剂或抗凝剂;
3. 标本应清澈透明, 检测前样本中如有悬浮物应通过离心去除。
4. 请勿使用溶血, 高血脂或污染的标本检测, 否则结果将不准确。

**注: 人血清或血浆样本请用样本分析缓冲液做倍比稀释后再检测。**

## 5、检测前准备工作:

1. 试剂盒自冰箱中取出后应置室温 (25-28°C) 平衡20分钟; 每次检测后剩余试剂请及时于2~8°C保存。
2. 将浓缩洗涤液用双蒸水或去离子水稀释(1份加19份水)。
3. 将5×标准品稀释液用双蒸水或去离子水稀释(1份加4份水)。
4. 标准品: 按标签复溶体积加入1×标准品稀释液复溶使VISFATIN终浓度达到32ng/ml, 室温反应, 请严格控制在25~28°C, 静置15~20分钟后轻轻混匀(建议抽吸几次)待彻底溶解, 用标准品稀释液倍比梯度稀释后依次加入检测孔中。(标准曲线取七个点, 最高浓度为32ng/ml, 标准品稀释液直接加入作为0浓度。)



## 6、洗涤方法:

自动洗板机或人工洗板: 每孔洗涤液为300ul, 注入与吸出间隔15-30秒。最后一次洗板完成后将板倒扣着在厚吸水纸上用力拍干。

## 7、实验过程需自备的材料:

1. 不同规格的加样枪及相应的枪头;
2. 酶标仪;
3. 自动洗板机;
4. 去离子水或双蒸水;

## 8、操作步骤:

- 1.通过计算并确定一次性实验所需的板条数,取出所需板条放置在框架内,暂时用不到板条请放回铝箔袋密封,保存于4℃。
- 2.建议设置本底校正孔,即空白孔,设置方法为该孔只加TMB显色液和中止液。每次实验均需做标准品对照并画出标准曲线。
- 3.分别将样品或不同浓度标准品按照100 $\mu$ l/孔加入相应孔中,用封板膜封住反应孔,室温(25-28℃)孵育120分钟。对于血清血浆样本,先加50ul的样本分析缓冲液,再加50ul样本。如检测超出范围,请先加50ul的样本分析缓冲液,再加用标准品稀释液稀释后的样本50 $\mu$ l检测。请注意记录好样品的稀释倍数,此处加样量50ul相当于已稀释了2倍。
- 4.洗板5次,且最后一次置厚吸水纸上拍干。
- 5.加入生物素化抗体工作液(100ul/孔)。用封板胶纸封住反应孔,室温(25-28℃)孵育60分钟。
- 6.洗板5次,且最后一次置厚吸水纸上拍干。
- 7.加入亲和素连接的HRP酶工作液(100ul/孔)。用封板胶纸封住反应孔,避光室温(25-28℃)孵育20分钟。
- 8.洗板5次,且最后一次置厚吸水纸上拍干。
- 9.加入显色剂TMB100ul/孔,避光室温(25-28℃)孵育15~20分钟。
- 10.加入中止液50ul/孔,混匀后即刻测量OD450值。

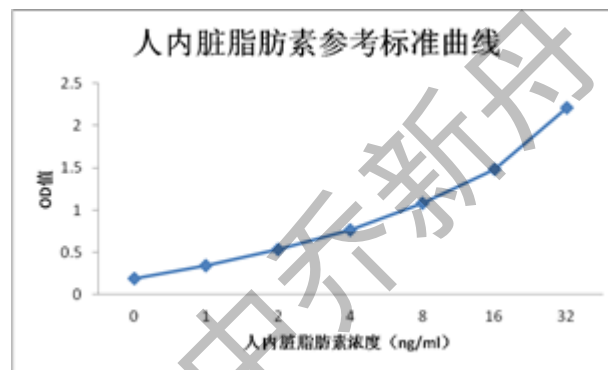
## 9、结果判断:

- 1.复孔的值在20%的差异范围内结果才有效,复孔的值平均后可作为测量值。
- 2.每个标准品或标本的OD值应减去本底校正孔的OD值。
- 3.手工绘制标准曲线。以标准品浓度作横坐标,OD值作纵坐标,以平滑线连接各标准品的坐标点。通过标本的OD值可在标准曲线上查出其浓度。
- 4.若标本OD值高于标准曲线上限,应当适当稀释后重测,计算浓度时应乘以稀释倍数。

典型数值和参考曲线

浓度ng/ml	典型OD值1	典型OD值2	OD平均值
0	0.172	0.204	0.188
1	0.338	0.344	0.341
2	0.509	0.567	0.538
4	0.742	0.786	0.764
8	1.046	1.114	1.08
16	1.427	1.543	1.485
32	2.132	2.286	2.209

人VISFATIN参考标准曲线



注意：本图仅供参考，应以同次试验标准品所绘标准曲线计算标本含量。

灵敏度，特异性和重复性：

1. 灵敏度：多次重复结果表明，最小检出量为232pg/ml。
2. 特异性：与人的HIC5、LIM1 无交叉反应性，与小鼠的Visfatin有33%交叉反应性。
3. 重复性：板内，板间变异系数均<10%。

## 10、注意事项：

1. 试剂盒请保存在2~8℃。
2. 浓缩洗涤液因在低温下可能有结晶，请水浴加热使结晶完全溶解后再配制工作液。
3. 标准品复溶加样后，剩余部份请丢弃。
4. 底物请勿接触氧化剂和金属。
5. 加样时，请及时更换枪头，避免交叉污染。
6. 严禁混用不同批号的试剂盒组份。
7. 充分混匀对保证反应结果的准确性很重要，在加液后请轻轻叩击边缘以保证混匀。
8. 室温反应，请严格控制在25~28℃。
9. 洗涤过程是至关重要的，洗涤不充分会使精确度下降并导致结果误差较大。
10. 试验中标准品和样本检测时建议作双复孔。
11. 加样过程中避免气泡的产生。
12. 血清和血浆标本的检测时，检测抗体的孵育时间应适当延长。

## 中乔新舟文献奖励

凡使用中乔新舟的产品的客户，在 SCI 期刊上发表文献，且在文献中标注产品来源于 Shanghai Zhong Qiao Xin Zhou Biotechnology Co.,Ltd.或 ZQXZbio 标注相应产品名称及货号，均可参与该活动。自 2025 年 1 月 1 日起，中乔新舟文献引用奖励按照如下规则进行：

文献引用奖励		
	影响因子	奖学金
SCI 期刊杂志	$1 \leq IF < 5$ 分	100 元
	$5 \leq IF < 10$ 分	200 元
	$10 \leq IF < 15$ 分	300 元
	$15 \leq IF < 25$ 分	600 元
	$IF \geq 25$ 分	800 元

1. 文献已发表，且申请人为第一作者或第一通讯作者；
2. 文章发表于 2025 年 1 月 1 日后；
3. 提交文献奖励申请，提供文献全文(PDF 格式)，并默认同意在中乔新舟®官网、公众号、知乎、小红书、抖音等社交媒体平台展示；
4. 每篇文献仅限领取一次奖励；
5. 影响因子(IF)以申请奖励时的分值为准；
6. 活动解释权归中乔新舟®所有。