



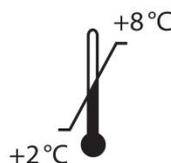
小鼠环磷酸腺苷(cAMP)ELISA 检测试剂盒（酶联免疫法）

用于体外定量检测牛 CAMP 含量

线性范围： 3.12-200ng/mL



RF8129



上海瑞番生物科技有限公司

地址：上海市嘉定区嘉罗公路 1661 弄 12 号 101 室 J1909

电话：+021-51172858

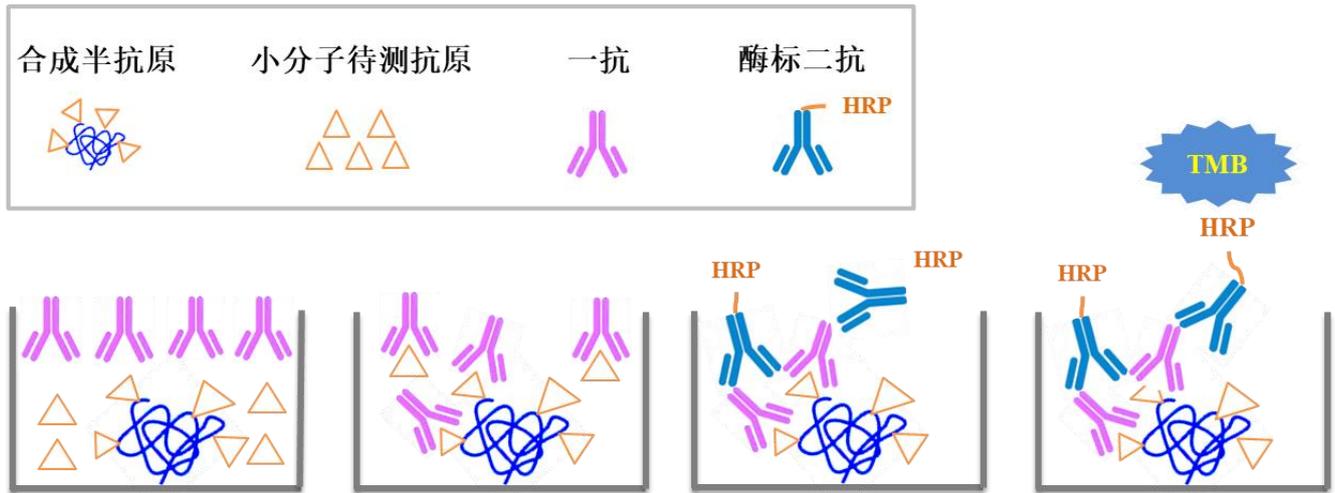
网址：www.shrfbio.com

1. 预期用途

本试剂盒设计用于定量检测血清、血浆、组织匀浆、细胞上清、细胞裂解物等样本中的待测物浓度，仅供研究使用，不得用于医学诊断。

2. 检测原理

试剂盒采用竞争法原理：将合成半抗原包被于酶标板上，同时加入样品和抗体试剂（一抗），样品中的待测物与半抗原上偶联的待测物竞争结合抗体（一抗），结合形成“半抗原-抗体”免疫复合物，清洗去除游离的免疫复合物后，加入 TMB 显色，样本中待测物浓度越高蓝色越浅，加入终止液，用酶标仪在 450 nm 处测 OD 值，颜色的深浅和样品中的待测物含量呈反比，通过绘制标准曲线计算出样本中待测物的浓度。



3. 包含的实验材料实验材料

名称 Label	组成成分 Kit Components	数量 (48T) Quantity	数量 (96T) Quantity
酶标板	预包被捕获半抗原的酶标板	8×6 条	8×12 条
校准品 (10×)	10 倍浓缩校准品 (2000ng/mL)	1 支×200μL	1 支×300μL
一抗抗体	检测抗体	1 支×300uL	2 支×300uL
酶标二抗	HRP 标记二抗抗体	1 瓶×5mL	1 瓶×10mL
通用稀释液	样品/校准品/一抗抗体通用稀释液	1 支×15mL	1 支×25mL
浓缩洗液 (20×)	20 倍浓缩洗液	1 支×15mL	1 支×25mL
显色剂	TMB、过氧化氢	1 支×6mL	1 支×10mL
终止液	稀硫酸、抗沉淀剂	1 支×3mL	1 支×6mL

如需单独采购通用型组分，请提供对应的组分名称。

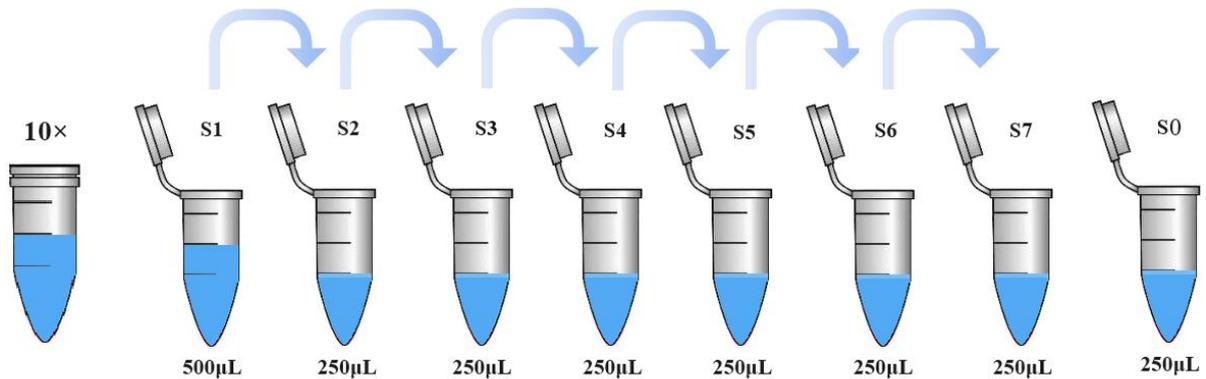
4. 需要但未包含的实验材料

- 蒸馏水或去离子水，一次性离心管、一次性手套等耗材；
- 移液器、多通道移液器及配套枪头；
- 烧杯、量筒、试剂瓶等容器具；
- 用于封贴微孔板的封板膜或其他替代材料；
- 微孔板振荡器（如有需要）、离心机、旋涡振荡器等辅助设备；

- 恒温培养箱、恒温水浴箱、酶标仪、洗板机。

5. 试剂的准备及储存

- 试剂盒各组分应储存于 **2~8°C** 保存；
- 使用前请确保试剂盒按规定的条件储存，每次实验仅准备所需实验用量的试剂，试剂盒最多可以使用 3 次；
- **校准品开封前应离心 30 秒**，确保所有校准品集中于底部；
- **1×洗液**的配制：浓缩洗液（20×）如有晶体析出，需在 37°C 下加热至晶体全部溶解后使用。用蒸馏水 1:20 稀释，例如：10mL 浓缩洗涤液加入 190mL 的蒸馏水，混合均匀。配制好的洗液可以在 2~8°C 保存 1 周；
- **一抗抗体工作液的配制**：一抗抗体（10×）使用**通用稀释液**按 1:10 倍稀释，例如：100uL 的一抗抗体加入 900uL 的**通用稀释液**。配制好的一抗抗体工作液可保存 8 小时。
- **校准品的配制**：准备 7 个试管，先将 10×校准品按需吸取一定量用**通用稀释液**稀释 10 倍配制检测线性范围上限校准品 S1。（例：50uL 的校准品（10×）+450uL 的**通用稀释液**，制备得到 500μL 的 S1 浓度校准品）。随后在 6 个离心管中分别加入 250μL 的**通用稀释液**，在这 6 个试管（S2~S7）中将 S1 校准品依次倍比稀释 6 个梯度至 S7，共配制 7 个浓度的校准品，依次为：S1、S2、S3、S4、S5、S6、S7，如下图所示，**通用稀释液**作为零浓度校准品 S0。



6. 样品采集、预处理及储存

下面列出的样品收集和储存条件旨在作为一般性指导，不同类型样品的储存、使用稳定性尚未完全评估。

- **血清**：使用血清采集管采集全血，室温静置待血细胞凝集后取的血清，或直接在 1000×g 下离心 15 分钟取得血清。操作应柔和，避免溶血发生。获取的血清应及时进行检测，如不能及时进行检测，应等分为多份，储存在 -20°C 及以下温度条件，储存时间不超过 6 个月，冷冻储存血清样品冻融不超过 2 次。血清样品建议 2 倍以上稀释，例如：50μL 样品+50μL 的 1×通用稀释液，稀释后的血清样本可在 2~8°C 储存不超过 8 小时。建议选取 1~2 份样本进行预实验确定最佳稀释度。
- **血浆**：使用 EDTA 或肝素采血管收集血浆。全血采集后以 1000×g 离心 15 分钟取得血浆。操作应柔和，避免溶血发生。获取的血浆应及时进行检测，如不能及时进行检测，应等分为多份，储存在 -20°C 及以下温度条件，储存时间不超过 6 个月，冷冻储存血浆样品冻融不超过 2 次。血浆样品建议 2 倍以上稀释，例如：50μL 样品+50μL 的 1×通用稀释液，稀释后的血清样本可在 2~8°C 储存不超过 8 小时。建议取 1~2 份样本进行预实验确定最佳稀释度。

7. 实验步骤

使用前将所有试剂置于室温平衡 30 分钟左右，也可置于 37°C 温箱快速回温至室温。

注意：酶标板未恢复室温前，请勿开封。

1	每孔加入校准品/待测样品 50 μ L，之后每孔再加入一抗抗体 50 μ L。
2	盖上封板膜，在 37 $^{\circ}$ C 下孵育 60 分钟，或者室温置于微孔板振荡器*上震荡 60 分钟。
3	洗板 5 次，最后一次洗板后弃去残留洗液，倒扣酶标板，在干净的吸水纸上拍干。
4	每孔加入 100 μ L 酶标二抗工作液。
5	盖上封板膜，在 37 $^{\circ}$ C 下孵育 30 分钟，或者室温置于微孔板振荡器*上震荡 60 分钟。
6	洗板 5 次，最后一次洗板后弃去残留洗液，倒扣酶标板，在干净的吸水纸上拍干。
7	每孔加入 100 μ L 显色液
8	37 $^{\circ}$ C 下避光孵育 15**分钟。
9	每孔加入 50 μ L 终止液。
10	使用酶标仪在 450nm 检测波长及 620~690nm 参比波长条件下测定吸光度值，如果没有参比波长则仅选择 450nm 波长进行检测。如果最高浓度校准品 OD 值过高，应立即在 405/630nm 双波长条件下检测。

* 建议微孔板振荡器振幅选择 500~550RPM 转速。

** 孵育时间可结合显色程度适当增减，建议孵育中途适当观察显色强度。

• 结果计算

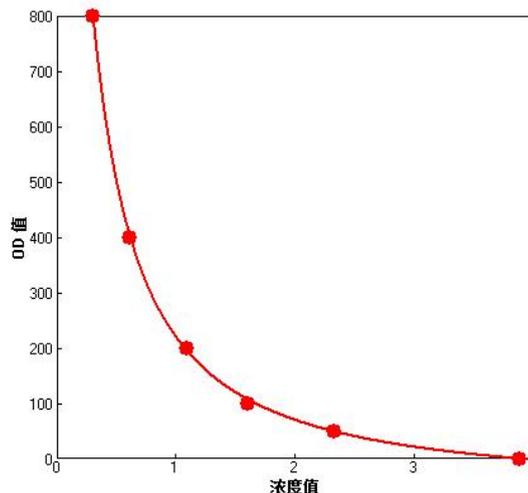
建议使用以下方式进行标准曲线的拟合：

● 四参数逻辑 (4-P) 曲线拟合：以浓度值为横坐标，吸光度值为纵坐标；

建议使用专业化软件进行结果拟合和计算，如 ELISACALC、SPSS、Graphpad Prism 等。

示例数据

以下数据和曲线仅供参考，实验者需根据自己的实验数据建立标准曲线。



8. 检测的局限性

样本浓度超出检测范围上限时，应当进行适当加大稀释倍数后再次检测，计算结果应当乘上稀释倍数。样本浓度低于 LOQ 定量限时，检测结果无法进行准确定量。

9. 产品性能指标

以下结果基于校准品的浓度值实验得出，未纳入基质效应等其他因素的潜在影响。

灵敏度：1.52ng/mL。

线性范围：3.12-200ng/mL

精密度：板内精密度 CV<10% (N=20)，板间精密度 CV<15% (N=20)。

特异性 (Analytical specificity)：其他相关因子在稀释缓冲液中制备为 10μg/mL 测定，没有观察到明显的交叉反应。

10. 注意事项

- 试剂盒内所有成分 **仅供研究使用!**
- 终止液含稀硫酸，具有腐蚀性，应谨慎操作。
- 试剂盒成分含防腐剂、蛋白成分等，可能引起皮肤过敏反应，应佩戴口罩避免吸入薄雾。
- 显色剂、浓缩洗液可能引起皮肤、眼睛和呼吸道刺激，应佩戴口罩避免吸入薄雾。
- 佩戴防护手套、防护服、眼睛和面部防护用品，实验操作后彻底洗手。

11. 技术要点

- 不同批次的试剂盒不能混用，不建议将不同板上的微孔板条组装在一块板上检测，尽管是同一批次试剂，也可能存在板与板之间的差异。
- 每次实验时应当始终配制标准曲线平行检测，不能将上一次的标准曲线用于下一次实验结果的计算。
- 不要使用超过有效期的试剂盒进行检测。
- 底物显色剂应当为无色，如变蓝表明已变质，不能应用于实验。
- 使用适当的封板膜密封微孔板条，以便检测结果更加可靠。
- 操作时尽量避免产生气泡。不要将不同试剂瓶的瓶盖交叉使用。
- 应当遵循说明书的操作进行实验，不按照说明书的操作将导致实验结果的变化，任何不遵循说明书的实验操作应当事先询问售后技术支持的建议。否则我们不保证实验结果的可靠。

【文献标题】Mannan Oligosaccharides Promoted Skeletal Muscle Hypertrophy through the Gut Microbiome and Microbial Metabolites in Mice.

【作者】 Weijie Zhao, Lvshuang Chen, Weihao Tan, Yongxiang Li, Lijuan Sun, Xiaotong Zhu, Songbo Wang, Ping Gao, Canjun Zhu, Gang Shu, Lina Wang, Qingyan Jiang.

【作者单位】华南农业大学

【文献中引用产品】

cAMP ELISA 试剂盒；肌肽 ELISA 试剂盒

【关键词】 C2C12; decanoic acid; mannan oligosaccharides; metabolite profile; skeletal muscle; gut microbiome

【DOI】 <https://doi.org/10.3390/foods12020357>

【影响因子 (IF)】 5.561

【出版期刊】《Foods》