



柱孢藻毒素ELISA检测试剂盒

PN 522011

(请以英文为准，中文仅供参考)

概述

这个Abraxis柱孢藻毒素 ELISA 检测试剂盒，适用于定量检测水样中柱孢藻毒素的含量。在样品处理的时候不需要浓缩。如果必要的话阳性样品可以通过HPLC或其他的传统的方法来验证。

安全性说明

底物溶液包含有 TMB，终止液含有稀硫酸。要避免皮肤和底物溶液与终止液接触。如果不小心接触的话请用清水冲洗。

储存和稳定性

这个Abraxis柱孢藻毒素ELISA 检测试剂盒应该置于4 - 8° C保存。在使用前要提前拿出来回复到室温（20-25° C）。在有效期内都可以使用。

原理

这个Abraxis柱孢藻毒素检测试剂盒的原理是直接竞争酶联免疫反应。通过一种特异性抗体来识别检测柱孢藻毒素。当样品中还有柱孢藻毒素及其类似物时，那么它们将会和柱孢藻毒素-HRP竞争和溶液中的微囊藻素抗体结合。微囊藻素抗体与包被在微孔板底部的羊抗鼠二抗结合。经过一个洗涤步骤后加入无色底物，产生了一个颜色反应。加入反应终止液后使颜色由蓝色变为黄色；在450nm波长进行检测，样品中的微囊藻素浓度与吸收光强度成反比。

试剂盒的局限性和可能的交叉反应

对在水样中经常出现的多种有机物和无机物已近作过检测对此试剂盒并无干扰。由于化合物的易变性质由基质反应引起的干扰是不可能完全避免的。以下物质的浓度在不高于 10,000 ppm 时对试剂盒检测结果没有影响：氧化铝、氯化钙、硫酸钙、硫酸锰、硫酸镁、氯化镁、氯化钠、磷酸盐、硫代硫酸钠。以下物质的浓度在不高于 1,000 ppm 时对试剂盒检测结果没有影响：硝酸钠、硫酸锌；腐殖酸小于 100 ppm 对检测结果没有影响；氯化铜小于 10 ppm 对检测结果没有影响。操作不当可能导致检测结果错误，比如：试剂盒保存条件不对、错误的加液顺序、试剂的量没有加准确、孵育的时间太长或太短、孵育的温度太高或太低。操作过程不易在强光下进行。和其它检测方法一样对阳性结果要求通过其它传统的方法来验证。

检测柱孢藻毒素的重要性

世界上大多数人都依赖地表水，因为表表水是主要的饮用水。饮用水工业面临着表面水污染的威胁，这将导致人类的安全问题。蓝绿藻属(*Cyanobacteria*, Blue-green Algae)分泌产生的蓝藻毒素是目前已经发现的污染范围最广，研究最多的一类藻毒素。柱孢藻毒素是由几种蓝绿藻病毒株产生，分布于全世界的淡水中。目前一发现*raciborskii* (Australia, Hungary, United States), *Umezakia natans* (Japan), *Aphanizomenon ovalisporum* (Australia, Israel) 都产生柱孢藻毒素。柱孢藻毒素的产生有株特异性，没有种族的特异性。有毒蓝藻赤潮是导致人和动物急性中毒的主要原因，有的还引发的死亡。这些毒素可以抑制肝功能的活性，这些毒素也是蛋白质合成和谷胱甘肽的抑制剂，最后导致细胞死亡。人体可能通过摄入毒素污染的水或食物(鱼)而中毒，或和柱孢藻毒素接触(如发生在淋浴或洗澡、涉水，游泳，划船，或者滑水)而中毒。为了保护消费者的健康，世界卫生组织已经提出一些毒素(如饮用水和水上娱乐设施中微囊藻毒素)的限制。通过对小鼠的急性毒性研究，科学家已近计算出人每日可容忍摄入的柱孢藻毒素的量以TDI表示。

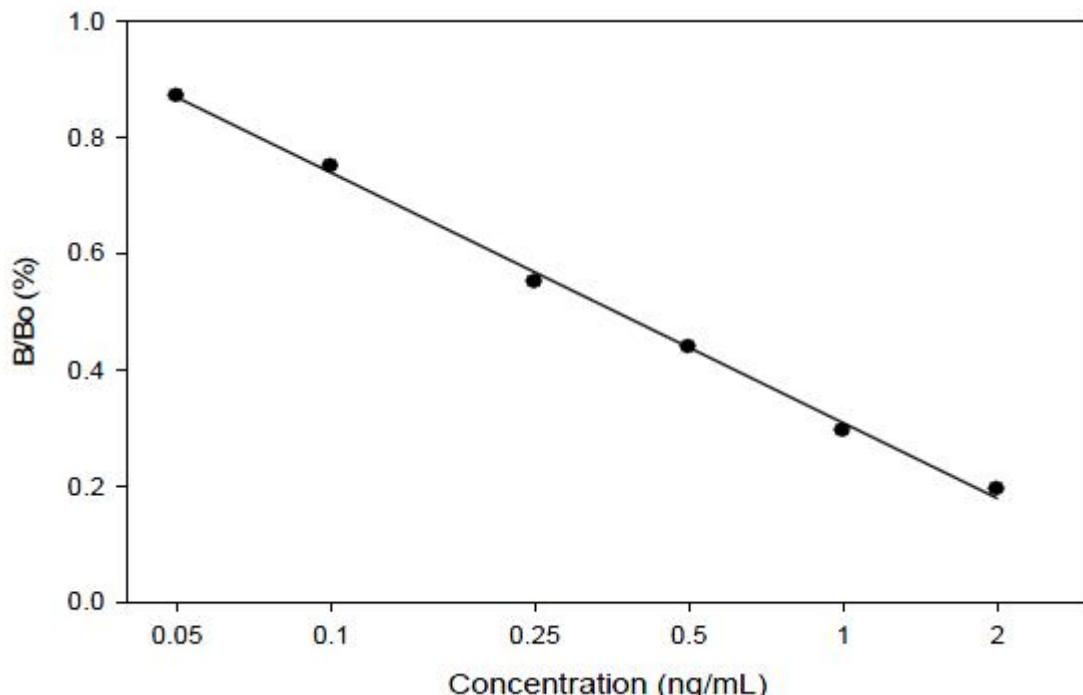
0.02 克/公斤体重/日。

性能数据

敏感性: 0.040 ppb (ug/L)

重复性: 相关变异系数 标准: <10%, 样品: <15%.

选择性: 这个试剂盒对柱孢藻毒素有相当好的交叉性, 对其他藻类毒素没有交叉反应。



样品: 一个样品相关性试验被做显示出良好的相关性 (用 ELISA 和 HPLC 分别测定)。

A 试剂盒组成

- 1、96孔酶标板: 1块 (12×8条), 包被有羊抗兔二抗。
- 2、标准溶液和对照: 标准7瓶, 浓度分别为0, 0. 05, 0. 10, 0. 25, 0. 50, 1. 0, 2. 0 ng/mL, 对照1瓶浓度为0. 75 ng/mL
- 3、抗体溶液 (兔抗柱孢藻毒素抗体) : 6ml
- 4、柱孢藻毒素-HRP酶标记物: 6ml
- 5、零标准/稀释液 25ml 用于稀释样品 (样品浓度大于2 ppb时)
- 6、洗液 5X Concentrate, 100 mL
- 5、底物显色液 (TMB) 12ml
- 6、终止液: 2瓶、每瓶6ml
- 7、使用说明书

B 测试前准备

微量移液器和吸头是必须使用的, 推荐使用排枪加液这样可以确保整个微孔板上的孔在每个步骤的反应时间趋于一致。在做同一次测试时要使用同一个盒子里的试剂和标准。在操作前仔细阅读说明书。

- 1、使用前将所有的试剂拿到室温 (19°C-25°C)。
- 2、从铝箔袋中拿出要求数量的微孔条, 放入干燥剂并重新封好袋子以免微孔条受潮。置于4-8°C保存。
- 3、标准液, 对照, 抗体溶液, 酶结合物, 底物, 终止液不用稀释直接使用。



- 4、洗液在使用前要以1: 5的比例稀释后使用（100 mL 5X 洗液加400 mL 无离子水）
5、由于终止液中包含稀硫酸拿的时候要小心。

C. 操作步骤

- 1、根据工作计划在对应的微孔中加入50 μ L标准、对照或样品，推荐做2-3个平行。
 - 2、用排枪在每个测试孔中都加入50 μ L酶结合物。
 - 3、每个测试孔都加入50 μ L抗体溶液，用封口膜把微孔板盖上，轻轻的震荡微孔板30秒使里面的液体混匀。在室温孵育45分钟。
 - 4、孵育完成后，将微孔中的溶液用力地倒入水槽中，用1X的洗液洗板3次，每孔每次至少加入250 μ L 1X的洗液。拍板，去掉残留的洗液。
 - 5、每个测试孔加入100 μ L的底物显色液。室温孵育30-45分钟，此步骤避免太阳光照射。
 - 6、每个测试孔加入100 μ L终止液。
 - 7、在450nm 下读取每个孔的吸光度值（OD）（在加入终止液15分钟内完成）

D 结果分析

结果分析可以利用商业ELISA分析软件(4-parameters,Logit/Log or alternatively point to point)。手工计算可以先计算标准的吸光度值的平均值，然后计算每个标准的% B/B_0 （用其它标准的吸光度值除以零标准的吸光度值乘以100%）。以每个标准的% B/B_0 做Y轴，以每个标准的柱孢藻毒素的浓度做X轴构建标准曲线。通过利用标准曲线，把对照和样品的% B/B_0 代入标准可以计算出样品中柱孢藻毒素的浓度。样品中柱孢藻毒素的含量小于0.05 ppb认为阴性。当样品中微囊藻素的含量大于2.0 ppb要稀释后再测定。阳性对照测定的范围在真实值的±25%范围内波动。

E 剂盒未提供的材料

- 1、50-200ul 的移液器及吸头。
 - 2、50-250ul 八道移液器及吸头。
 - 3、450nm 的酶标仪。
 - 4、震荡器（可选）
 - 5、移液槽
 - 6、洗板机

F. 工作计划

Std 0–Std 6: 标准

PC (阳性对照): 0.75 ppb

Sam1, Sam2, etc. : 样品



Recovery

Four (4) groundwater samples, were spiked with various levels of Cylindrospermopsin and then assayed using the Abraxis Cylindrospermopsin Assay. The following results were obtained:

Amount of Cylindrospermopsin Added (ppb)	Recovery		
	Mean (ppb)	S.D. (ppb)	Recovery (%)
0.1	0.101	0.019	101
0.25	0.269	0.026	108
0.50	0.514	0.038	103
1.0	0.982	0.113	98
Average			103

Precision

The following results were obtained:

Control	1	2	3
Replicates	3	3	3
Days	3	3	3
n	9	9	9
Mean (ppb)	0.198	0.501	1.01
% CV (within assay)	6.2	4.3	5.2
% CV (between assay)	8.3	5.3	4.9

敏感性: 0.040 ppb.