



鱼腥藻毒素 a 检测试剂盒说明书

PN 520060

注意：在使用前请认真阅读说明书（请以英文为准，中文仅供参考）

1、概述

ABR鱼腥藻毒素a检测试剂盒利用受体结合的原理。适用于定量或定性检测水样中鱼腥藻毒素a的含量。其他样品的提取步骤请与我公司联系。如果有必要阳性样品可以通过HPLC, GC/MS或其他的传统方法证实测定结果。

2、安全说明

标品中含有少量鱼腥藻毒素 a，底物中含有四甲基联苯胺，终止液也含有稀硫酸。要避免接触到皮肤和粘膜。如果不小心接触了请用大量的水冲洗。

3、储存和稳定性

鱼腥藻毒素 a 检测试剂盒应该保存在 4-8°C。在使用之前试剂盒中的试剂要恢复到室温（20-25°C）。试剂盒在有效期内可以使用。酶标物需要现配，配好的酶标物溶液只能在冰冻保存 1 周。

4、原理

Abraxis 鱼腥藻毒素 a 检测试剂盒的原理是基于鱼腥藻毒素 a 与受体结合的反应。如果样品中含有鱼腥藻毒素 a，会与生物素标记的 α -金环蛇毒素竞争受体（nAChRs）的结合位点，洗板后加入链霉亲和素酶标物与生物素结合，再洗板加入底物显色，溶液颜色深浅与鱼腥藻毒素 a 的含量成反比。通过做标准曲线计算每个样品中鱼腥藻毒素 a 的含量。

5、鱼腥藻毒素 a 检测试剂盒的限制和可能的干扰

样品中的很多易出现的有机物和无机物已经被检测表明对试剂盒的检测没有干扰。然而由于样品中化合物的多变性引起的基质效应是不可能完全避免的。鱼腥藻毒素a在光照或者高pH条件下会降解，所以如果样品暴露在光照或者高pH条件会造成鱼腥藻毒素a含量偏低。后面有样品处理部分，可以先看看如何合理处理样品。在使用的过程中出现失误也会影响结果，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（低于35°C或高于40°C），显色反应温度太高或太低（低于16°C或高于20°C）。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。

6、鱼腥藻毒素 a 检测的重要性

鱼腥藻毒素a是由蓝藻产生的生物碱神经毒素。在蓝藻毒素中是最毒的一种。人或者动物体内的肌肉神经接点是鱼腥藻毒素a的一个靶标（鱼腥藻毒素a也能穿过血脑屏障），肌肉神经接点把信息从突触前的神经终端传达到突触后的肌肉，同时乙酰胆碱会释放出来，激活肌肉的乙酰胆碱受体，激发一系列的事件是肌肉收缩。大部分的乙酰胆碱会被肌肉神经接点处的乙酰胆碱酯酶分解。鱼腥藻毒素a作为一种乙酰胆碱受体激动剂，效能是乙酰胆碱的20倍，但不能被乙酰胆碱酯酶分解，会使肌肉终板持续去极化，过度刺激肌肉，导致肌肉疲惫和麻痹。注射鱼腥藻毒素a5分钟，就会出现抽搐、心律失常、呼吸麻痹，最后窒息而死。

人和动物可能会注射含有鱼腥藻毒素a的针剂或者喝到含有鱼腥藻毒素a的水而中毒。鉴于此毒素的危害，很多国家已经开始

对水中的鱼腥藻毒素a进行检测。新西兰规定鱼腥藻毒素a的最大可接受量为6.0ug/L。



鱼腥藻毒素a检测试剂盒可以检测43个样（双样），同时需要的样品量几个毫升，整个实验可以在3.5小时内完成。

工作指导

A 试剂盒组成

- 1、96孔板：包被有乙酰胆碱受体，1块（12条×8孔）。
- 2、标品缓冲液：1瓶(6mL)。
- 3、样品缓冲液：1瓶(6mL)。
- 4、鱼腥藻毒素a标品：5瓶（1mL）0，5，25, 125， and 500 ng/mL (ppb)。
- 5、生物素标记的 α -金环蛇毒素：1瓶（6mL）。
- 6、链霉亲和素酶标物：4瓶（冻干的），检测前配用。
- 7、酶标物稀释液：1瓶（12mL）
- 8、样品稀释液：1瓶（25ml）
- 9、5×浓缩洗液：1瓶（100ml）,使用前按比例稀释
- 10、底物显色液（TMB）:1瓶（16ml）
- 11、终止液：1瓶（12ml）。

B、试剂盒未提供的材料

- 1、微量移液器及一次性吸头（(20-200 μ L）
- 2、多道移液器（50-250ul）及吸头
- 3、纯净蒸馏水
- 4、量筒
- 5、500ml容量瓶（用于配洗液）
- 6、保鲜膜
- 7、计时器
- 8、吸水纸巾
- 9、37° C 孵育器
- 10、酶标仪（波长450nm）

C、样品收集和处理

收集水样放在棕色玻璃瓶冷藏，5天内检测。样品需要保存5天以上的要冰冻起来。不要把样品暴露在自然或者人造光线中，因为光会使鱼腥藻毒素a分解。不要用可以升高pH值的试剂来保存样品。在提取或者浓缩样品时可以调整pH值，短暂的暴露于高pH环境是不会对很严重的影响结果的，就是不要长期的暴露于高pH环境。

如果总的鱼腥藻毒素a（游离的和结合细胞的）都要检测，检测前先要用合适的方法（反复冻融，超声波裂解等）使细胞裂解。

如果有机质太多先要过滤再检测（如果检测总的鱼腥藻毒素a要先融解再过滤，否则可能过滤掉细胞结合的毒素）。

D、测试准备

微量移液器和吸头是必须使用的，推荐使用排枪来添加结合物、底物和终止液，这样可以保证整个酶标板的孵育时间一致。



在做同一次测试时要使用同一个盒子里的试剂和标准。

- 1、使用前将所有的试剂拿到室温（19℃-25℃）。
- 2、板是由 12 条 8 孔的微孔组成，每次使用不要超过 6 条，要不可能出现飘移。一次检测使用多于 6 条可能出不准确的结果。
- 3、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℃保存。
- 4、标品液、缓冲液、生物素标记的阿尔法金环蛇毒素、底物和终止液可直接使用，无需再稀释。
- 5、酶标物是冻干的（4瓶），每次检测前计算好酶标物的用量，（1瓶可以够用于30个孔个检测）陪酶标物溶液时，1瓶加入3.5mL酶标稀释液，震荡混匀，新配好的酶标物溶液只能冰冻保存一个星期。如果一次用到多瓶，要把他们合并一起，用前混匀。
- 6、以1：5的比例稀释洗液（如果要使用一整瓶那么100ml洗液+ 400ml蒸馏水或无离子水）。
- 7、由于终止液中包含酸，拿的时候要小心。

E、工作计划

板是由 12 条 8 孔的微孔组成，每次使用不要超过 6 条，要不可能出现飘移。一次检测使用多于 6 条可能出不准确的结果。每次检测都要用同一次的标准曲线，不能用之前的标准曲线。

Std 0-Std 4: 标准 (Std 0-Std 4: 0; 5; 25; 125; 500ppb)

Sam1, Sam2, etc.: 样品

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Std0	Std4	etc									
B	Std0	Std4	etc									
C	Std1	Sam1										
D	Std1	Sam1										
E	Std2	Sam2										
F	Std2	Sam2										
G	Std3	Sam3										
H	Std3	Sam3										

F、检测步骤

使用前将试剂盒和样品处理物提前从冰箱中拿出来使其达到室温。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。

- 1、在对应的微孔中分别加入25μL标准缓冲液或者样品缓冲液。
- 2、在对应测试孔加入100 μL 标品溶液和样品。轻轻敲打或者来回移动来混匀，用保鲜膜盖好板，37° C孵育2小时。
- 3、每个测试孔加入50μL生物素标记的阿尔法金环蛇毒素，用胶带盖上，轻微摆动酶标板30s混合液体；在37° C下孵育30分钟。
- 4、孵育完成后，将微孔中的溶液倒入水槽中，用250μL1x洗液洗板，然后倒掉，拍板，去掉残留的洗液，洗板3次。
- 5、每个测试孔加入100μL酶标溶液。轻微摆动酶标板30s混合液体；在37° C下孵育30分钟，避免阳光直射。
- 6、孵育完成后，将微孔中的溶液倒入水槽中，用250μL1x洗液洗板，然后倒掉，拍板，去掉残留的洗液，洗板3次。
- 7、每个测试孔加入150μL底物，轻微摆动酶标板30s混合液体；在室温下孵育30分钟，避免阳光直射。
- 8、每个测试孔加入100μL终止液。
- 9、轻微摆动酶标板 10s 混合液体，450nm 下读取每个孔的吸光度值（OD）。

G、结果分析

可以利用商业ELISA软件程序比如Logit/Log or 4-Parameter 来评价ELISA结果。也可以通过计算每个标准的%B/B0值，以%B/B0为y轴、鱼腥藻毒素a浓度为x轴作一标准曲线。样品浓度可以通过标准曲线来计算。当样品中鱼腥藻毒素a的浓度小于标准1（5ppb）时，水样结果即为<5ppb；当样品中鱼腥藻毒素a的浓度大于标准4（500ppb）时，水样结果即为>500ppb。样品需要进一步稀释后再测定。

H、操作数据

检测限

鱼腥藻毒素a的检测限约为2.3 ng/mL(90% B/B0)。中间浓度约为87.4 ng/mL.(50% B/B0)，检测值出于中间的位置比较可靠。试剂盒的范围是5 ng/mL 到500 ng/mL，如果所直接检测的样品的浓度在一个更低的范围(0.25 ng/mL到25 ng/mL)，则需要进一步浓缩固相萃取，相关技术方法请咨询Abraxis公司。

标准曲线（仅供参考，不用于实验结果计算）

