

呕吐毒素 (DON) ELISA 试剂盒

货号: PMK1791

保存: 2-8℃避光保存 12 个月

规格: 48T/96T

检测范围: 5-405ppb 灵敏度: 5ppb

产品简介

呕吐毒素是一类真菌毒素，它具有很强的致癌性，主要存在于谷物、坚果、棉籽以及一些和人类血液，动物饲料相关的产品中。其中呕吐毒素的毒性、致癌性、污染频率均居于首位。薄层色谱一直是检测呕吐毒素常用的方法，但是此方法制备样品及分析样品时费时又费力。而使用呕吐毒素 ELISA 试剂盒则能够快速而准确的分析样品中呕吐毒素残留。

检测原理

本试剂盒采用间接竞争 ELISA 方法，在微孔条上预包被偶联抗原，待测抗原（标准品或样本）中的呕吐毒素和微孔条上预包被的偶联抗原竞争呕吐毒素抗体，加入酶标记物反应后，洗涤去除未结合的物质，然后用 TMB 底物显色，酶促反应产生蓝色物质，加入终止液后，变成黄色。在 450nm 波长下测定吸光值，样本吸光值与其所含残留物呕吐毒素的含量成负相关。最后通过建立标准曲线，将样本吸光值与标准曲线比较可得出相应残留物呕吐毒素的含量。

精密度: 板内变异系数<5%，板间变异系数<8%

样本定量检测下限:

牛奶: 50ppb

奶粉、奶油、奶酪: 5ppb

饲料、谷物、玉米、花生、豆类、果蔬: 500ppb

样本回收率:

食品: 85±10%

饲料: 75±10%

特异性: 检测具有高灵敏度和优良的特异性。与呕吐毒素类似物没有显著交叉反应。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
预包被微孔板	48 孔	96 孔	2-8℃
标准品 (0ppb、5ppb、15ppb、45ppb、135ppb、405ppb)	0.5mL×6	1mL×6	2-8℃
酶标记物	6mL	12mL	2-8℃
抗体工作液	3.5mL	7mL	2-8℃
底物液 A	3.5mL	7mL	2-8℃避光保存
底物液 B	3.5mL	7mL	2-8℃避光保存

终止液	3.5mL	7mL	2-8℃
洗涤液 (20×)	20mL	40mL	2-8℃
浓缩复溶液 (2×)	25mL	50mL	2-8℃
封板膜	1 张	2 张	室温
说明书	1 份	1 份	室温

自备仪器、试剂

仪器：酶标仪（能测 450nm 处的吸光度）、旋转蒸发仪/氮气吹干装置、均质器、振荡器、离心机、刻度移液管、天平（感量 0.01g）、多通道移液器或自动洗板机、可调节式移液枪及枪头

试剂：甲醇、正己烷、滤纸

试剂准备

注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。

1. 使用前将所有试剂平衡至室温 (18-25℃)。按照酶标仪说明书进行设置检测波长为 450nm，并在读板前预热 15 分钟。
2. 洗涤液：取浓缩洗涤液，根据检测数量，用去离子水或蒸馏水 1: 20 稀释，混匀后备用。
3. 复溶液：将 2×浓缩复溶液用去离子水按 1: 1 稀释。(1 份浓缩复溶液+1 份去离子水，用于样品的稀释)。
4. 样品提取液：70%甲醇溶液 30ml 蒸馏水或去离子水和 70ml 纯甲醇混合制备 70%甲醇溶液。

样本前处理

(a) 生鲜牛奶：

1. 直接取 50μl 牛奶+450μl 复已稀释好的溶液液混合 30s；
2. 取 50μl 用于检测检测分析。

样本稀释倍数:10

(b) 奶粉、奶油、奶酪

1. 称取 5g 样品于 50ml 离心管中，加入 10ml 甲醇，强力振荡 5min；室温 4000r/min 以上，离心 10min。
2. 取 2ml 上清液，于 50℃水浴中氮气/空气吹干。
3. 用 1ml 正己烷溶解残留物，加入 1ml 稀释后的复溶液液混合 30s；室温 4000r/min 以上，离心 5min，
4. 取 50ul 下层溶液进行检测分析。

样本稀释倍数:1

(C) 饲料、谷物、玉米、花生、豆类、果蔬

1. 称取 2g 粉碎的样品于 50ml 离心管中，加入 10ml 的提取溶液混合；强力振荡 5 分钟。
2. 用 Whatman No. 1 滤纸过滤；收集过滤液。
3. 取出上清液 50ul 与已稀释好的复溶液液 950ul 充分混合 30s
4. 取 50ul 进行检测分析。

样本稀释倍数:100

注意：1. 实验中必须使用一次性吸头，在吸取不同的试剂时要更换吸头。

2. 实验之前须检查实验器具是否干净，必要时可对实验器具进行清洁，以避免污染干扰实验结果。

实验步骤

1. 从板框上取下多余的板条，将它们放回装有干燥剂包的铝箔袋中，然后重新密封。
2. 每孔加入 50 μL 标准品或样品，建议所有标准品和样品做复孔并记录标准孔和样本孔所在的位置。然后加入抗体 50μl/孔，充分混匀，给酶标板覆膜，25℃环境中反应 30min。
3. 手工洗板：弃去每孔中的液体，每孔加入 350 μL 洗涤液。浸泡 30 秒再倒出每孔中液体并在干净的吸水纸上拍干。重复这个洗涤步骤，共 5 遍。洗板机洗板：选择洗涤 5 次程序洗板后拍干。（拍干后未被清除的气泡可用干净的枪头刺破）。
4. 每孔加入酶标记物 100μL，给酶标板覆膜，25℃环境中反应 30min。

产品说明书

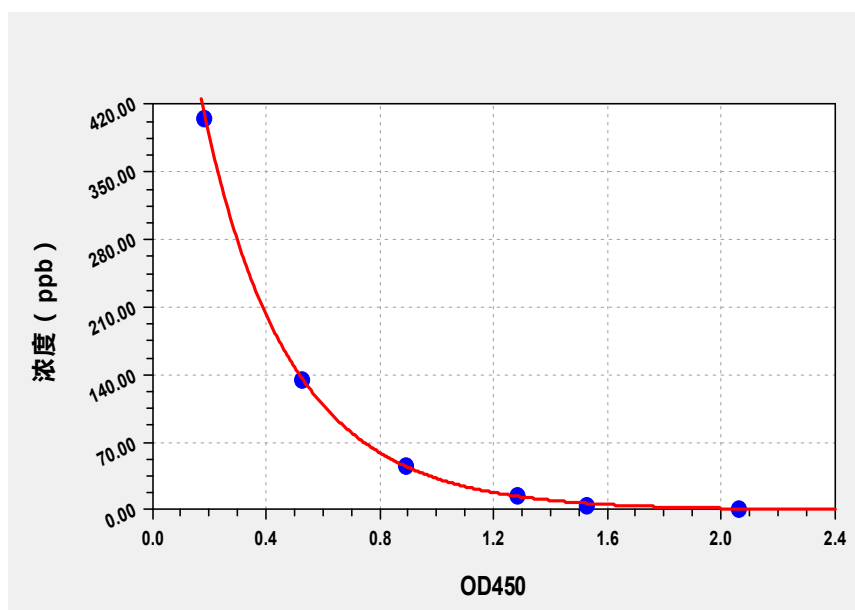
5. 弃去每孔中的液体，重复步骤 3 的洗涤过程 5 遍。
6. 显色：每孔加入底物液 A 50 μ L，再加底物液 B 50 μ L，振荡混匀后，25 $^{\circ}$ C 环境中避光显色 15min，远离气流和其他温度波动。
7. 测定：每孔加入 50 μ L 终止液，终止液应按照与底物液相同的顺序加到板中。孔中的颜色应从蓝色变为黄色。如果孔中的颜色为绿色或颜色变化不均匀，请轻轻敲击板以确保彻底混合。5min 内测定每孔 450nm 处的吸光值。

结果计算

以 x 轴为 OD 值，y 轴为标准品浓度拟合一条标准曲线，通过回归分析确定回归方程。将样本 OD 值作为 x 带入方程计算 y 值（浓度）。

结果展示

典型标准曲线 ($R^2 \geq 0.99$)



呕吐毒素标准曲线。数据和曲线仅供参考，实验者需根据自己的实验建立标准曲线

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。终止液有一定的腐蚀性，操作时请做好防护措施。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并严格按照说明书进行存储。
4. 本试剂盒最佳反应温度为 25 $^{\circ}$ C，温度过高或过低将导致检测吸光度值和灵敏度发生变化。
5. 新打开的 ELISA 酶标板可能含有水雾样物质，此为正常现象，不会对实验结果产生任何影响。未用完的板条应立即放回装有干燥剂的铝箔袋中，重新密封存储。
6. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
7. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。实验之前须检查各种实验器具是否干净，必要时可对实验器具进行清洁，以避免污染，干扰实验结果。
8. 为了得到准确的实验结果，在孵育过程中，必须确保封板膜将酶标板密封。
9. 在使用自动洗板机时，添加清洗缓冲液后，在清洗步骤之间添加 30 秒的浸泡时间可提高分析精度。在洗板过程中如果出现板孔干燥的情况，则会伴随着出现标准曲线不成线性，重复性不好的现象。所以洗板拍干后应立即进行下一步操作。
10. 标准物质和无色的底物液对光敏感，因此要避免直接暴露在光线下。底物液保存过程中应为无色，若有任何颜色表明变质，应当弃之。0 浓度标准的吸光度值小于 0.5 ($A_{450nm} < 0.5$) 时，表示试剂可能变质。

疑难解答

问题	可能原因	解决措施
标曲线性不好	标准品稀释不正确	确保标准品按照推荐方法溶解和稀释
	移液不准确	定期校准移液器并检查枪头密封性
	反应液蒸发	用封板膜密封酶标板
	洗板不彻底	足够的洗涤次数和加入足量洗涤液
	孔底有异物	读数前清洁板底
显色弱或无	试剂反应不充分	确保孵育时间并按推荐温度孵育
	试剂体积添加不足	检查移液器并严格按照操作步骤操作
	稀释不正确	检查试剂稀释步骤
	酶结合物失活	混合酶结合物和底物，通过显色反应检查
OD 值低	酶标仪设置不正确	检查仪器波长
	没加终止液	加入适量终止液
	读板时等待时间太长	及时读板

相关产品：

PMK1705 氟霉素 ELISA 试剂盒

PMK1790 赭曲霉毒素 A ELISA 试剂盒

PMK1792 微囊藻毒 ELISA 试剂盒

更多产品详情了解，请关注公众号：

