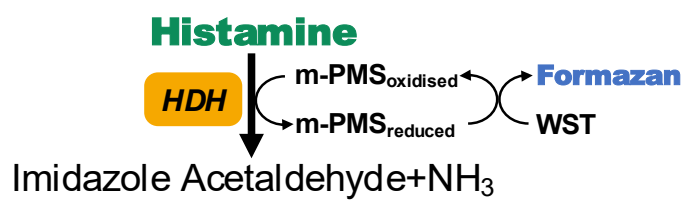




组胺含量检测试剂盒

Histamine Content Assay kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



组胺含量检测试剂盒

Histamine Content Assay kit

一、产品描述

组胺是一种重要的生物活性物质，主要由组氨酸在脱羧酶的作用下产生，在生理和病理过程中起着多种重要的作用，当机体受到刺激或遇到过敏原时，组胺会被释放并引起血管扩张、血管通透性增加和平滑肌收缩等反应，导致过敏症状的出现，在免疫系统和中枢神经系统中起着重要作用。

组胺会被组胺脱氢酶（HDH）特异性分解，在 1-mPMS 作用下，电子转移通过 WST 生成水溶性 Formazan，产物在 470 nm 处具有特征吸收峰，根据吸光值变化即可定量检测组胺的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液 A	液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	-
提取液 B	液体 10 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 25 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×2 支	4°C 保存	使用前每支加入 80 μ L 蒸馏水充分溶解 (现用现配，配制后 4°C 可保存 1 个月)
试剂三	液体 2.5 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂四	液体 8 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂五	粉剂×1 瓶	4°C 保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C 保存	10 μ mol/mL 组胺标准液
标准应用液的制备（现用现配）：使用前将 10 μ mol/mL 组胺标准液使用蒸馏水稀释至 0.16 μ mol/mL 即为标准应用液。			

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、台式离心机、可调式移液器、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 样本处理（可根据预实验结果适当调整样品量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液 A 体积（mL）为 1：（2-5）的比例（建议称取 0.2 g 组织，加入 1 mL 提取液 A）处理样品，冰浴匀浆，60℃处理 30 min（密封以防止水分散失），冷却至室温，4℃ 12000 g 离心 10 min，吸取 800 μL 上清液至 2 mL 离心管中，缓慢加入 150 μL 提取液 B，吹打混匀至无气泡产生，4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②培养液等液体样本：吸取 500 μL 液体样本加入 50 mg 试剂五，再加入 500 μL 提取液 A 充分混匀，60℃处理 30 min（密封以防止水分散失），冷却至室温，4℃ 12000 g 离心 10 min，吸取 800 μL 上清液至 2 mL 离心管中，缓慢加入 150 μL 提取液 B，吹打混匀至无气泡产生，4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

注：提取液 B 加入时会产生大量气泡，应缓慢加入并吹打混匀至无气泡产生，建议使用 2 mL 离心管。

2. 测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 470 nm，蒸馏水调零。

②试验前将试剂一置于 37℃预热 15 min 以上；

③检测工作液的制备（现用现配）：使用前根据使用量，按照试剂二：试剂三=1:19 的体积比配制。

④在 96 孔板中依次加入下列试剂（避光条件下进行）：

试剂	测定组 (μL)	对照组 (μL)	标准组 (μL)	空白组 (μL)
试剂一	130	160	130	130
检测工作液	30	-	30	30
试剂四	40	40	40	40
待测样本	30	30	-	-
标准应用液	-	-	30	-
蒸馏水	-	-	-	30
充分混匀，37℃避光准确反应 40 min				

吸光值测定：测定 470 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 ΔA 测定 = A 测定 - A 对照， ΔA 标准 = A 标准 - A 空白。注：空白组只需测定 1-2 次，每个样品均需设一个对照组。

3.组胺含量计算

①按组织蛋白含量计算

$$\text{组胺含量} (\mu\text{mol/mg prot}) = \frac{C \text{ 标} \times \Delta A \text{ 测定}}{C_{\text{pr}} \times \Delta A \text{ 标准}} = \frac{0.16 \times \Delta A \text{ 测定}}{C_{\text{pr}} \times \Delta A \text{ 标准}}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{组胺含量} (\mu\text{mol/g}) = \frac{C \text{ 标} \times \Delta A \text{ 测定} \times (V \text{ 上清} + V \text{ 提 B}) \times V \text{ 提 A}}{W \times V \text{ 上清} \times \Delta A \text{ 标准}} = \frac{0.19 \times \Delta A \text{ 测定}}{W \times \Delta A \text{ 标准}}$$

③按液体样本体积计算

$$\text{组胺含量} (\mu\text{mol/mL}) = \frac{C \text{ 标} \times \Delta A \text{ 测定} \times (V \text{ 上清} + V \text{ 提 B}) \times (V \text{ 液} + V \text{ 提 A})}{V \text{ 液} \times V \text{ 上清} \times \Delta A \text{ 标准}} = \frac{0.57 \times \Delta A \text{ 测定}}{\Delta A \text{ 标准}}$$

注释: C 标: 标准应用液浓度, 0.16 $\mu\text{mol/mL}$; V 提 A: 提取过程中加入提取液 A 的体积, 1 mL;

V 上清: 提取过程中上清液的体积, 0.8 mL; V 提 B: 提取过程中加入提取液 B 的体积, 0.15 mL; V

液: 提取过程中加入液体样本的体积, 0.5 mL; W: 样本质量, g; C_{pr}: 样本蛋白含量, mg/g。

四、注意事项

①样本提取后应在 2 小时内检测, 若样本量较多建议分批进行检测;

②提取液 A 中含有蛋白沉淀组分, 待测样本不能用于蛋白含量测定; 若使用蛋白浓度计算组胺含量, 则需要另取样本使用 PBS 或生理盐水按照相同步骤制备为待测样本, 再进行蛋白浓度测定;

③若 A 测定大于 1.2 或 ΔA 大于 1.0, 建议将待测样本适当稀释后再进行检测; 若 ΔA 测定小于 0.05, 建议适当增加样本量后再进行检测, 计算时相应修改;

④为保证结果准确且避免试剂损失, 测定前请仔细阅读说明书 (以实际收到说明书内容为准), 确认试剂储存和准备是否充分, 操作步骤是否清楚, 且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定, 过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

