

小鼠5羟色胺（5-HT） ELISA Kit

规格：96T/48T

预期用途：

仅供科研使用，定量检测血清、血浆、细胞培养上清液、组织中5羟色胺（5-HT）的浓度。

检测原理：

试剂盒采用酶联免疫分析方法。采用生物素标记5-HT，纯化的抗5-HT抗体包被微孔板，在竞争抑制反应中，一定量的固相抗体与生物素标记5-HT及非标记抗原（校准品或标本）进行抑制竞争反应，抗体与生物素标记的5-HT结合量受非标记抗原量所抑制，非标记抗原量多，抗体与生物素标记的5-HT结合就少，反之结合就多；反应平衡后，形成固相抗体-生物素化5-HT，再加入酶标记的亲合素，形成固相抗体-生物素化5-HT-酶标-亲合素复合物。经加底物显色后，用酶标仪在450nm波长下测定吸光度（OD值）。随着5-HT浓度的升高，OD值逐渐下降呈良好的线性关系。本试剂盒具有灵敏度高、特异性强、重复性好、操作简单、快速等特点，对血清中5-HT的减少或升高有可靠的检出性能。

试剂盒组成：

组分	数量	主要成分
校准品	0.5ml/管*6管	抗原配制的6个浓度标准品
包被微孔板	96T/48T	预包被固相抗体
HRP标记亲和素	6mL	HRP标记的亲合素
生物素化抗原	6mL	检测抗原
底物液A	6mL	过氧化脲工作液
底物液B	6mL	TMB工作液
终止液	6mL	2mol/L稀释液
样本稀释液	6mL	PBS
20×浓缩洗涤液	30mL	含0.15%Tween20的PBS
说明书	1份	-
自封袋	1个	-
不干胶	2片	-

标准品浓度依次为：240、120、60、30、15、0ng/ml。

本品必须按照具有潜在的感染性进行处理，处理过程应当遵循通用的安全措施。

需要但未提供的材料及耗材：

1. 酶标仪
2. 精密移液器及一次性吸头
3. 蒸馏水
4. 洗瓶或者自动洗板机
5. 37℃水浴锅或恒温箱
6. 500ml量筒
7. 无粉一次性乳胶手套



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

储存条件及有效期:

1. 2-8℃保存, 切勿冷冻, 有效期6个月。
2. 开封使用后, 包被微孔板放入带有干燥剂的自封袋中, 密闭自封袋, 并将全部试剂放回2-8℃冰箱。
3. 开封后, 按照建议的条件保存, 校准品、包被微孔板和HRP标记亲和素, 有效期为14天, 其他成分在标签标明的有效期内是稳定的。

适用仪器:

半自动的酶标仪, 如Thermo MK3, 或者国产酶标仪。

样本要求:

样本类型和采集

以下只是列出样品采集的一般指南。所有样本采集过程中, 不得使用叠氮钠做为防腐剂。

1. 细胞培养上清: 4000rpm条件下离心20min, 去除细胞颗粒和聚合物, 上清液保存在-20℃以下, 避免反复冻融。
2. 血清: 使用不含热原和内毒素的试管, 操作过程中避免任何细胞刺激, 4000rpm条件下离心20min, 小心地分离出血清, 保存在-20℃以下, 避免反复冻融。
3. 血浆: 肝素, EDTA, 或柠檬酸钠作为抗凝剂。在4000rpm条件下, 离心20分钟取上清, 血浆保存在-20℃以下, 避免反复冻融。
4. 组织: 用预冷的PBS (0.01M, pH=7.4)冲洗组织, 去除残留血液, 称重后将组织剪碎。将剪碎的组织与对应体积的PBS(一般按1: 9的重量体积比, 比如1g的组织样品对应9mL的PBS, 具体体积可根据实验需要适当调整, 并做好记录。推荐在PBS中加入蛋白酶抑制剂)加入玻璃匀浆器中, 在冰上充分研磨。为了进一步裂解组织细胞, 可以对匀浆液进行超声破碎或反复冻融。最后将匀浆液5000×g离心5-10分钟, 取上清检测。

样本保存和稳定性

样本在2-8℃条件下, 可以储存72h, 或者在-20℃储存6个月。样本收集后, 不是一次检测完, 请按一次用量分装冻存, 避免反复冻融, 使用时在室温下解冻, 确保样品均匀充分解冻。

检验方法:

试剂准备

1. 使用前, 所有的组分都要至少复温30min, 确保充分复温到室温。
2. 浓缩洗涤液: 从冰箱取出的浓缩洗涤液, 会有结晶产生, 这属于正常现象, 水浴加热使结晶完全溶解。浓缩洗涤液与蒸馏水, 按1:20稀释, 即1份的浓缩洗涤液, 添加19份的蒸馏水。

操作程序

1. 将各种试剂移至室温平衡两小时, 取浓缩洗涤液, 根据当批检测数量, 用蒸馏水1: 20稀释, 混匀后备用。
2. 将预包被板从密封袋中取出, 设一个空白对照孔, 不加任何液体; 每个校准品设2孔, 每孔加入对应校准品50μl; 其余每个检测孔直接加待测血清或质控品50μl。
3. 除空白孔外所有孔加入生物素化抗原50μl, 混匀, 贴上封板膜, 置37℃温育60分钟。
4. 手工洗板: 弃去孔内液体, 洗涤液注满各孔, 静置10秒甩干, 重复3次后拍干。洗板机洗板: 选择洗涤3次程序洗板后拍干。
5. 每孔加入酶标亲和素50μl (空白对照孔除外), 混匀, 贴上封板膜, 置37℃温育30分钟。
6. 手工洗板: 弃去孔内液体, 洗涤液注满各孔, 静置10秒甩干, 重复3次后拍干。洗板机洗板: 选择洗涤3次程序洗板后拍干。
7. 每孔加显色剂A 50μl, 显色剂B 50μl, 振荡混匀后, 置37℃避光显色15分钟, 每孔加终止液50μl。
8. 用酶标仪读数, 取波长450nm, 先用空白对照孔调零点, 然后测定各孔光密度值 (OD值)。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

实验结果计算：

检测完成后，以标准品浓度做为纵坐标，对应的吸光度（OD值）作为横坐标，利用计算机软件，采用四参数Logistic曲线拟合（4-pl），创建标准曲线方程，通过样本的吸光度（OD值），利用方程计算样品的浓度值。

如果样品被稀释，通过上述方法测得的浓度值，要乘以稀释倍数，才是样品的最终浓度。

检验方法的局限性：

1. 仅供科研使用，不得用于临床诊断。
2. 在试剂盒标示的有效期内使用，过期产品不得使用。
3. 跟其他厂家的试剂盒或者组分不能混用。
4. 使用试剂盒配套的样品稀释液。
5. 如果样本值高于最高标准品浓度值，请将样本适当稀释后，再重新测定。
6. 通过其他方法得到的检测结果，与本试剂盒测定结果不具有直接的可比性。

产品性能指标：

1. 外观和物理检查：试剂盒应组分齐全，内外包装均应完整，标签清晰，液体试剂无渗漏。各组分装量不少于表1中要求。
2. 线性：用四参数Logistic曲线拟合（4-pl），在7.5ng/ml – 240ng/ml范围内，剂量-反应曲线相关系数（r）的绝对值应不低于0.9900。
3. 精密度
 - 3.1分析内精密度：试剂盒质控品测定结果的变异系数（CV）应不大于15.0%。
 - 3.2批间精密度：在三个不同批次产品之间，质控品测定结果的变异系数（CV）应不大于15.0%
4. 最低检出限：最低检测浓度小于1.0ng/mL。
5. 质控品测定值：每次检测结果均应在允许范围内。

注意事项：

生物安全

1. 检测必须符合实验室管理规范的规定，严格防止交叉污染，所有样品、洗弃液和各种废弃物都应按照传染病物进行处置。
2. 试剂盒的液体组分中，含有proclin-300防腐剂，可能引起皮肤过敏反应，避免吸入烟雾与皮肤接触。
3. 底物液对皮肤、眼睛和上呼吸道有刺激作用，避免吸入烟雾。戴上防护手套，实验完成后彻底洗手。

技术提示

1. 混合蛋白溶液时，避免起泡。
2. 加校准品与样本时，每个校准品浓度和样本都要更换移液枪头，公共组分应该悬臂加样，免交叉污染。
3. 合适的温育时间，和充分的洗涤步骤，是保证实验结果准确性的必要条件。
4. 底物溶液为无色液体，保存过程中变为蓝色，代表底物溶液已经失效，不得使用。
5. 终止液加样顺序与底物溶液加样顺序一致，加入终止液后，蓝色底物产物，会瞬间变为黄色。
6. 实验中，用剩的板条，应立即放回自封袋中，密封（低温干燥）保存。
7. 所有液体组分，使用前充分摇匀，严格按照说明书标明的时间、加样量及加样顺序进行温育操作。

废物处理

所有使用或未使用的试剂，所有污染性的一次性材料，应当遵循传染性或潜在传染性产品的处理程序，每个实验室都有责任根据其实验的类型和危险级别，进行废物和污物的处理，同时要严格依照有关规定对待所有的废物和污物。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>