（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

产品货号：E-BC-K893-M

产品规格：96T(40 samples)

检测仪器：酶标仪(440-480 nm)

Elabscience®组胺比色法测试盒

Histamine Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清（浆）、动植物组织及细胞样本中组胺含量。

检测原理

组胺（Histamine）是一种在自然界广泛存在的内源性活性物质，是参与炎症反应和免疫损伤的重要介质，它的含量会随生物体的腐败程度的提高而增加。组胺可在酶的作用下与显色剂产生显色物质，在 460 nm 有最大吸收峰，测定该显色物质在 460 nm 处的 OD 值可计算样本的组胺含量。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	提取液 (Extraction Solution)	50 mL×1 瓶	-20ºC 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 (Substrate)	粉剂×5 支	-20ºC 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	缓冲液 (Buffer Solution)	14 mL×1 瓶	-20ºC 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	显色剂 (Chromogenic Solution)	1.5 mL×2 支	-20ºC 避光 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	1 mmol/L 标准品溶液 (1 mmol/L Standard Solution)	1.6 mL×1 支	-20ºC 避光 保存 6 个月
	96 孔酶标板	96 孔 ×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张	
	样本位置标记表	1 张	

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(波长 440-480 nm，最佳检测波长 460 nm)、37°C 恒温箱、低温离心机、水浴锅

耗材：10 KD 超滤管(血清)

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 工作液的配制：

取一支试剂二用2.5 mL试剂三溶解混匀，未使用完的溶液2-8°C避光可存放一周。

③ 200 μmol/L标准品溶液的配制：

取200 μL试剂五用800 μL双蒸水稀释混匀，未使用完的溶液2-8°C避光可存放一周。

④ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度（μmol/L）	**0**	**40**	**80**	**100**	**120**	**140**	**160**	**200**
200 μmol/L 标准品溶液（μL）	0	40	80	100	120	140	160	200
双蒸水（μL）	200	160	120	100	80	60	40	0

样本准备

① 样本处理

组织样本：按照组织样本质量（g）：试剂一（mL）=1：9的比例匀浆，4ºC，10000 × g离心10 min，取上清液，水浴锅中煮沸20 min，4ºC，10000 × g离心10 min，取上清液，置于冰上待测。

细胞样本：取1×10^6个细胞，加入200 μL试剂一匀浆，4ºC，10000 × g离心10 min，取上清液，置于冰上待测。

血清（浆）样本：使用10 KD超滤管4°C 12000 × g离心15 min，收集滤液，置于冰上待测。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：2.44-200 μmol/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%新鲜三文鱼肉组织	不稀释	10%变质金枪鱼肉组织	4-10
10%黄颡鱼肉组织	不稀释	10%鲅鱼组织	不稀释
10%变质鲅鱼肉组织	不稀释	10%金枪鱼肉组织	3-6
10%辣椒组织	2-8	10%葡萄果肉组织	不稀释
10%大蒜组织	不稀释	10%红枣组织	2-8
小鼠血清	不稀释	大鼠血清	不稀释
胎牛血清	不稀释	0.2×10^6 个 Jurkat 细胞	不稀释
0.2×10^6 个 4T1 细胞	不稀释	0.2×10^6 个 HL-60 细胞	不稀释
0.2×10^6 个 293T 细胞	不稀释	0.2×10^6 个 CHO 细胞	不稀释

注：稀释液为试剂一。

操作步骤

① 标准孔：取 20 μL 不同浓度的标准品溶液，加入相应的酶标孔中；
测定孔：取 20 μL 待测样本加入相应的酶标孔中；
对照孔：取 20 μL 待测样本加入相应的酶标孔中。

② 向步骤①中各孔加入 20 μL 试剂四。

③ 向步骤②中标准孔和测定孔加入 100 μL 工作液，对照孔加入 100 μL 试剂三。

④ 振荡 5 s，37°C 避光孵育 40 min，使用酶标仪于 460 nm 处，测定各孔 OD 值。

操作表

	标准孔	测定孔	对照孔
不同浓度标准品溶液(μL)	20	--	--
待测样本(μL)	--	20	20
试剂四(μL)	20	20	20
工作液(μL)	100	100	--
试剂三(μL)	--	--	100
振荡 5 s, 37°C 避光孵育 40 min, 使用酶标仪于 460 nm 处, 测定各孔 460 nm OD 值。			

结果计算

标准品拟合曲线： $y = a x + b$

血清（浆）样本中组胺含量计算公式：

$$\text{组胺含量 (μmol/L)} = \frac{\Delta A - b}{a} \times f$$

组织样本中组胺含量计算公式：

$$\text{组胺含量 (μmol/kg wet weight)} = \frac{\Delta A - b}{a} \div \frac{m}{V} \times f$$

细胞样本中组胺含量计算公式：

$$\text{组胺含量 (μmol/10^9 个)} = \frac{\Delta A - b}{a} \div \frac{n}{V} \times f$$

注解：

y：标准品 OD 值-空白孔 OD 值（标准品浓度为 0 时的 OD 值）

x：标准品的浓度

a：标曲的斜率

b：标曲的截距

ΔA：样本的绝对 OD 值(测定孔 OD 值-对照孔 OD 值)

f：稀释倍数

m：组织样本的质量，g

V：匀浆液体积，mL

n：用于匀浆的细胞样本数量/10^6 个

附录1 关键数据

1. 技术参数

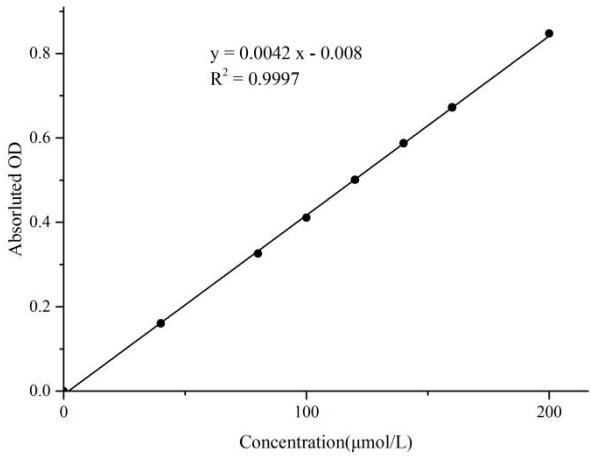
检测范围	2.44-200 μmol/L	**批间差**	1.5-4.2 %
灵敏度	2.44 μmol/L	**批内差**	0.5-1.6 %
回收率	97-108 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品加样量20 μL，按照操作步骤进行实验，OD值如下表所示：

标准品浓度 (μmol/L)	**0**	**40**	**80**	**100**	**120**	**140**	**160**	**200**
OD 值	0.068	0.227	0.395	0.478	0.565	0.651	0.742	0.915
	0.068	0.230	0.393	0.480	0.573	0.660	0.739	0.916
平均 OD 值	0.068	0.229	0.394	0.479	0.569	0.656	0.741	0.916
绝对 OD 值	0	0.161	0.326	0.411	0.501	0.588	0.673	0.848

② 绘制标曲(如下图)：



附录2 实例分析

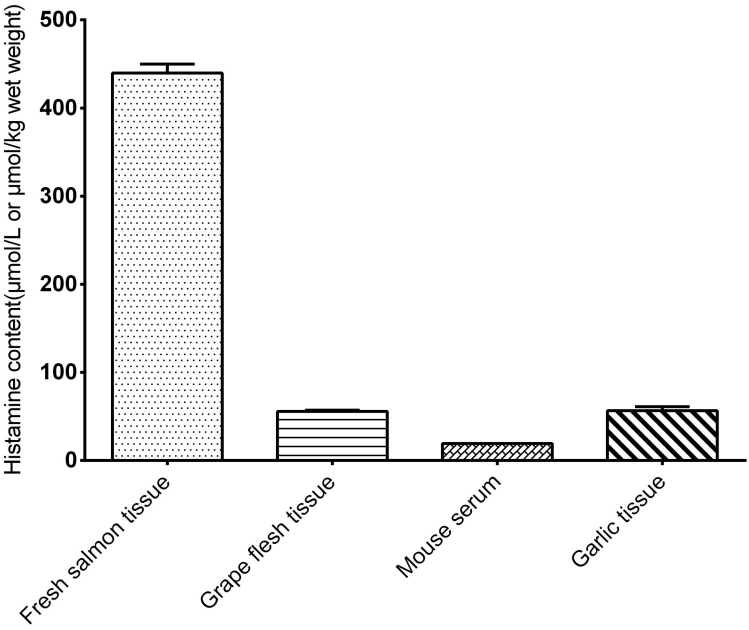
例如检测新鲜三文鱼肉组织(数据仅供参考)：

取20 μL处理好的10%新鲜三文鱼肉组织匀浆样本，按操作表操作，结果如下：标准曲线：y = 0.0042 x - 0.008，测定孔平均OD值为0.303，对照孔平均OD值为0.106，计算结果为：

组胺含量(μmol/kg wet weight) = (0.303 – 0.106 + 0.008) ÷ 0.0042 ÷ (0.1 ÷ 0.9)

= 439.64 μmol/kg wet weight

按说明书操作，测定新鲜三文鱼肉组织(10%组织匀浆，加样量20 μL)、葡萄果肉组织(10%组织匀浆，加样量20 μL)、小鼠血清(加样量20 μL)、大蒜组织(10%组织匀浆，加样量20 μL)的组胺含量(如下图)：



声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。