

货号: BP-QP-E032-96

E.coli 表达菌宿主蛋白残留检测试剂盒 V2 (ELISA·一步法)

V01



包装规格

96 T/盒

预期用途

本试剂盒用于使用大肠杆菌(*E.coli*)进行表达和扩增的生物制品中宿主蛋白 HCP 的定量检测。

本试剂盒仅供研究使用,不能用于医学诊断。

检验原理

本产品使用 ELISA 双抗体夹心法测定样品中的 *E.coli* 宿主蛋白 HCP 含量。在固相载体酶标板上包被抗大肠杆菌宿主蛋白抗体,加入标准品或待测样品和 *E.coli* 宿主蛋白 HCP 检测抗体,形成抗体-抗原-检测抗体复合物。经洗涤后,加入显色液(3,3',5,5'-四甲基联苯胺,TMB)显色,TMB 在 HRP 的催化下由无色转化成蓝色并在酸的作用下最终转化成黄色。黄色深浅与待测样本中 *E.coli* 宿主蛋白 HCP 的含量呈正相关。

产品性能

本试剂盒经充分评估,标曲范围为 2-100 ng/mL,定量限为 1.5 ng/mL;

板内精密度小于 10%,板间精密度小于 15%;回收率为 80-120%。

本试剂盒仅用于检测样品中 *E.coli* 宿主蛋白 HCP 的含量。

主要组成成分

组分	规格	储存温度
<i>E.coli</i> 表达菌 HCP 标准品 1-8 (质量分别为: 48, 24, 12, 4.8, 2.4, 1.2, 0.48, 0 ng)	八联管/袋×3	2-8°C
<i>E.coli</i> 表达菌 HCP 检测抗体	12mL×1 瓶	
浓缩洗液 (20×)	50mL×1 瓶	
样本稀释液	50 mL×1 瓶	
显色液	12 mL×1 瓶	
终止液	6 mL×1 瓶	
抗 <i>E.coli</i> 表达菌 HCP 抗体包被酶标板	96 孔	
封板膜	2 张	
说明书	1 份	

未提供但需准备

涡旋振荡器

洗板机

微孔板振荡器

酶标仪

去离子水

微量移液器与配套灭菌枪头

吸水纸等耗材

货号: BP-QP-E032-96

E.coli 表达菌宿主蛋白残留检测试剂盒 V2 (ELISA·一步法)

V01



储存条件及有效期

1. 未拆封产品有效期为 12 个月。拆封后产品有效期为 1 个月（在保质期内）。
2. 酶标板拆封使用后，剩余部分应放于铝箔袋中密封保存。
3. 使用结束需及时放回 2-8℃ 储存条件下保存。
4. 产品批号及有效期见产品包装标签。

注意事项

1. 本试剂盒仅供研究使用。
2. 所有的样本和试剂被认为具有潜在危害。为了您的安全和健康，请穿戴实验服与一次性手套等防护措施。避免试剂直接接触皮肤和眼睛。如不慎接触，请立即用大量清水清洗。
3. 使用本试剂盒前，请详细阅读产品说明书。
4. 请在试剂盒标识的有效期内使用产品，各组分按标签条件储存。不同批号的试剂组分不可混用。本试剂盒不可与其他商品化试剂盒混用。
5. 为避免微生物的污染，以及试剂与样本间的交叉污染，请使用一次性枪头，请使用干净的容器、加样槽配制和暂存试剂，封板膜不可重复使用。
6. 所有组分在使用前需平衡至室温，液体试剂充分混匀后再取样。预制酶标板为可拆卸板条，可根据实验需求拆取。剩余未用部分请及时放回含干燥剂的铝箔袋中，密封低温保存。宜避免对酶标板底部刮花或其他影响光密度测量的操作。
7. 洗板推荐使用洗板机，洗板过程中避免串流或气泡，以防影响实验结果准确性。最后一次洗板后，应将板孔中残留的液体甩干。
8. 每次测定时，需生成新的标准曲线。

检测方法

1. 实验前准备

将所需试剂放至室温（25±2℃）至少平衡 30 min。

2. 试剂配制

如浓缩试剂出现结晶，37℃水浴，直至结晶全部溶解。

2.1 标准曲线配制

冻干八联管平衡至室温（25±2℃）后，拆开外包装，加入样本稀释液 240ul/孔，用移液器轻轻吹打混匀待用，管 1 标准品浓度为 200 ng/mL，可用于加标回收；管 2-8 为标曲，标准品浓度分别为：100, 50, 20, 10, 5, 2, 0 ng/mL。现用现配。

备注：不可用其他体积的复溶液溶解该标准品；注意管号，标曲管号为 2-8，不要混淆，复溶后的八联管可以放置于吸头盒吸头孔里固定。

2.2 洗涤工作液配制

浓缩洗液（20×）平衡至室温（25±2℃）后，轻轻混匀。按实验需要计算所需洗液用量，按浓缩洗液（20×）：纯化水=1：19 体积比进行稀释配制，轻轻混匀，避免大量泡沫。现用现配。

3. 样本稀释

建议对样本进行加标回收研究，以消除样品基质的干扰，确保 HCP 检测结果的准确性和可靠性。推荐使用最小稀释倍数进行样本稀释。

如您的样本为工艺阶段样本，其浓度高于本检测方法的分析范围，可高于最小稀释倍数进行稀释，但应评估其稀释线性，以

货号: BP-QP-E032-96

E.coli 表达菌宿主蛋白残留检测试剂盒 V2 (ELISA·一步法)

V01



确保检测方法准确，以适用于您的 HCP 检测。

4. 检测步骤

4.1 酶标板孔排列

根据实验量从铝箔袋中取出相应数量板条。

4.2 加入检测抗体

每孔加入 100 μ L 检测抗体。

4.3 加入标准品/样本

加入 100 μ L 各个浓度的 *E.coli* HCP 标准品、稀释好的样本、阴性对照。请务必保证标准品、样本、对照和检测抗体的加样在 15 分钟内连续进行。封板膜封板，保持室温 ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) 在微孔板振荡器上孵育 100min，微孔板振荡器速度保持在 350 rpm (可根据不同振荡器调节转速，保证每孔溶液充分混匀且不洒出即可)。

4.4 洗涤

弃去各孔内液体，每孔分别加入 350 μ L 洗涤工作液，静置 30 秒后弃去孔内液体；继续重复以上操作 4 次，洗板结束在吸水纸上拍干。

4.5 显色

每孔分别加入 100 μ L 单组份显色液，保持室温 ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) 避光静置显色 15 min。

4.6 终止显色

每孔加入 50 μ L 终止液，轻微混匀，观察到颜色由蓝色变为黄色。

4.7 数据读取

选择酶标仪主波长 450 nm，参考波长 630 nm，测定各孔 450 nm 及 630 nm 吸光值。请在反应终止后 15 min 内进行数据读取。

5. 结果分析

5.1 各孔 OD 值=450 nm 吸光值-630 nm 吸光值，若酶标仪没有配备参考波长 (630 nm)，则各孔 OD 值=450 nm 吸光值即可。若待测样品浓度的 OD 值超出标准曲线最高值，宜对样品做进一步稀释再检测。

5.2 本试剂盒建议以标准品浓度作为横坐标，OD 值为纵坐标，采用四参数方式进行曲线拟合，标曲的拟合软件可以用酶标仪自带的软件，若无，则建议采用专业的标曲制作软件，如 Curve Expert，ELISACalc 等。标准曲线相关系数 $R^2 \geq 0.99$ ，否则实验无效。

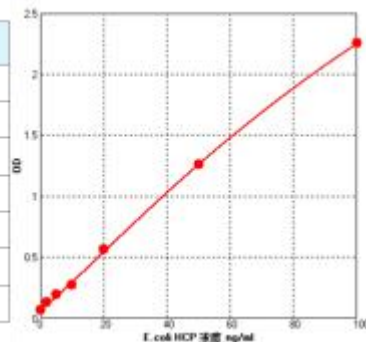
5.3 建议设置复孔，应先计算其平均值再进行曲线拟合。

5.4 将待测样品测定的 OD 值代入标准曲线的拟合方程中，计算出样品浓度，即为待测样品中 *E.coli* 宿主蛋白 HCP 浓度。如待测样品有被稀释，计算结果时应乘以稀释倍数。

典型标准曲线

一种典型的标准曲线如下，数据仅作参考，具体以实际测试为准：

<i>E.coli</i> HCP 浓度 ng/mL	OD值
100	2.2535
50	1.2625
20	0.5625
10	0.2705
5	0.1935
2	0.1315
0	0.069



货号: BP-QP-E032-96

E.coli 表达菌宿主蛋白残留检测试剂盒 V2 (ELISA·一步法)

V01



常见异常排查

异常现象	可能原因	解决思路
实验 OD 值整体偏低	试剂盒未平衡完全	实验前将试剂盒从冰箱拿出, 室温平衡至少 30 min 再使用
	试剂混用或保存不当	不同批次试剂不可混用; 各试剂请按说明书指导温度存放
	孵育时间/温度和说明书不一致	请严格按照说明书要求进行孵育。冬天室温较低时, 如显色较浅, 可适当延长显色时间或注意调整室温至 $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 左右。
	样本制备不合适	重新制备标曲和样本
实验 OD 值整体偏高	孵育时间/温度和说明书不一致	请严格按照说明书要求进行孵育反应
	样本制备不合适	重新制备标曲和样本
标曲正常, 样本显色异常	样本稀释倍数不合适	建议对初测样品做 4-5 个稀释梯度, 确保至少有一个值可以落在检测范围
	钩状效应	在确保检测浓度落在检测范围内的前提下, 提高稀释倍数
	样本保存不当或反复冻融次数过多	尽量使用分装冻存不超过 3 个月的样本; 分装使用, 减少反复冻融次数
	样本原液中存在干扰因素	在确保检测浓度落在检测范围内的前提下, 提高稀释倍数, 减轻干扰影响; 无法解决时, 联系我司技术人员进行专项调整
	样本中待测物含量过低	降低稀释倍数或浓缩样本后再加样
背景值高	孵育时间/温度和说明书不一致	请严格按照说明书要求进行孵育反应
	微孔板反应前未覆盖封板膜	孵育时应覆盖封板膜, 防止液体蒸发和杂物污染
	洗涤或加样操作过程异常, 不慎带入污染	使用试剂盒自带洗液, 确保洗涤次数和洗液体积充分, 洗涤后孔内干净无残留; 确保实验操作区域的环境洁净
	显色未避光/时间长	显色时应避光, 显色时间参考说明书
变异系数 (CV) 较大	移液器不准	使用校准后的移液器并正确操作
	边缘效应	确保所有试剂和酶标板均为同一温度
	试剂混用	不同批次试剂不可混用
加标回收率超出限定范围	基质干扰	通过线性稀释和回收率实验评估基质效应。在确保检测浓度落在检测范围内的前提下, 提高稀释倍数, 减轻干扰影响; 无法解决时, 联系我司技术人员进行专项调整
	加标浓度选取不合适	加标浓度的设定最好大于实际样品中目标分析物的浓度; 低浓度下加标浓度的选择, 不宜小于定量限