

## 产品名称

T7 RNA 聚合酶检测试剂盒（酶联免疫吸附法）

## 规格

96 T/盒

## 预期用途

本试剂盒用于样品中 T7 RNA 聚合酶的定量检测，仅供研究使用。

## 检验原理

本产品使用双抗体夹心 ELISA 测定样品中的 T7 RNA 聚合酶含量。在固相载体酶标板上包被抗 T7 RNA 聚合酶特异性单克隆抗体，加入抗 T7 酶标结合物与标准品或待测样品混匀后同步反应，形成抗体-抗原-抗体-HRP 复合物。经洗涤后，加入 TMB（3,3',5,5'-四甲基联苯胺）显色液反应，TMB 在 HRP 酶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 T7 RNA 聚合酶的含量呈正相关。

## 主要组成成分

	组分	规格	储存温度
盒 1	T7 RNA 聚合酶标准品（0.25 mg/mL）	40 $\mu$ L $\times$ 1 管	-20 $^{\circ}$ C
盒 2	抗 T7 RNA 聚合酶抗体预制酶标板	12 $\times$ 8, 96T	2-8 $^{\circ}$ C
	浓缩洗液（20 $\times$ ）	50 mL $\times$ 1 瓶	
	样本稀释液	50 mL $\times$ 1 瓶	
	抗 T7 酶标结合物工作液	13 mL $\times$ 1 瓶	
	显色液	13 mL $\times$ 1 瓶	
	终止液	7 mL $\times$ 1 瓶	
	封板膜	2 张	
	说明书	1 份	

注：本试剂盒不可与其他商品化试剂盒混用。

未提供但需准备：涡旋振荡器、洗板机、微孔板振荡器、酶标仪，超纯水、微量移液器与配套灭菌枪头、吸水纸等耗材。

## 储存条件及有效期

- 盒 1 于-20 $^{\circ}$ C 保存，盒 2 于 2-8 $^{\circ}$ C 避光保存，有效期为 12 个月。
- 酶标板拆封使用后，剩余部分应放于铝箔袋中密封，在 2-8 $^{\circ}$ C 保存。
- 盒 1、盒 2 使用结束需及时放回相对应的储存条件下保存。
- 盒 1 中试剂应尽量避免反复冻融，次数不超过 9 次。
- 产品批号及有效期见产品包装标签。

## 检测方法

### 1. 实验前准备

将所需试剂放至室温平衡 30min

### 2. 试剂配制方法

#### A、标准品系列的配制

管号	标准液浓度 (ng/mL)	标准液体积 (μL)	样品稀释液体积 (μL)	总体积 (μL)	标准品终浓度 (ng/mL)	剩余体积 (μL)
	250000	5	495	500	2500	468
A	2500	32	593	625	128	325
B	128	300	300	600	64	300
C	64	300	300	600	32	300
D	32	300	300	600	16	300
E	16	300	300	600	8	300
F	8	300	300	600	4	300
G	4	300	300	600	2	600
H	/	0	300	300	0	300

B、工作浓度 1×洗液的配制：浓缩洗液平衡至室温后，充分混匀。按实验需要计算所需洗液用量，按浓缩洗液：超纯水=1：19 体积比进行稀释配制。

### 3. 检测步骤

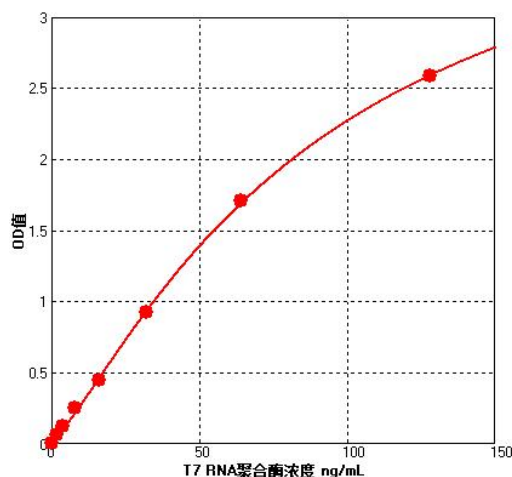
- 1) 酶标板孔排列：根据实验量从铝箔袋中取出相应数量板条，剩余的板条放回铝箔袋中密封好，2-8℃ 保存。
- 2) 加样：稀释好标准品与样品，按每孔 100 μL 加酶标结合物工作液于板孔中，随后每孔加入 100 μL 标准品或样品。用封板膜封板置于 25° C 微孔板振荡器上混匀反应 120 min。
- 3) 洗涤：弃去各孔内液体，用 1×洗液注满微孔（至少 300 μL /孔），静置 30 秒后弃去孔内液体；重复 4 次，最后一次洗板完成后在面巾纸上拍干。
- 4) 显色：每孔分别加单组份显色液 100 μL，室温避光显色 15 min。
- 5) 测定：每孔加终止液 50 μL，置于微孔板振荡器上轻微混匀。选择酶标仪主波长 450 nm，参考波长 630 nm，测定各孔吸光值。

## 结果分析

- 1) 初次使用本产品，建议对待测样品稀释 3 个浓度梯度做预实验，比如 10 倍、200 倍、500 倍，确保其中一个稀释度的检测结果能落在检测区间内。后续检测根据预实验结果做样品稀释。
- 2) 建议用样本稀释液稀释待测样品将 mRNA 浓度降至 100 μg/mL 及以下，再进行样品检测。
- 3) 如待测样品浓度的 OD 值超出标准曲线最高值，宜对样品做进一步稀释再检测。
- 4) 本试剂盒建议以标准品浓度作为横坐标，OD 值为纵坐标绘制标准曲线，采用四参数方式进行曲线拟合。标准曲线相关系数  $R^2 \geq 0.99$ ，否则实验无效。
- 5) 如有设置复孔，应先计算其平均值。

6) 以理论浓度标准品绘制的标准曲线如下

T7 RNA 聚合酶浓度 ng/mL	O 均值
128	2.590
64	1.708
32	0.923
16	0.445
8	0.249
4	0.121
2	0.065
0	0.006



7) 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 T7 RNA 聚合酶浓度。如待测样品有被稀释，计算结果时应乘以稀释倍数。

## 产品性能

本试剂盒经充分评估，标曲范围为 2-128 ng/mL，检测限为 0.3 ng/mL；板内精密度小于 10%，板间精密度小于 15%；准确度为 80-120%。

本试剂盒仅用于检测样品中 T7 RNA 聚合酶的含量。

## 注意事项

- 1) 使用本试剂盒前，请详细阅读产品说明书。
- 2) 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。
- 3) 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。
- 4) 预制酶标板为可拆卸板条，可根据实验需求拆卸。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。
- 5) 标准品体积较小，使用前可用高速离心机将管壁、管盖上的液滴沉积至管底。
- 6) 封板膜不可重复使用。不同批号的试剂组分不可混用，微量移液器枪头为一次性使用，以免交叉污染。
- 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) 结果判读，请在反应终止后 15 min 内进行。
- 9) 每次测定时，需生成新的标准曲线。
- 10) 为了您的安全和健康，请穿戴实验服与一次性手套。
- 11) 本试剂盒仅限科研使用。