

包装规格

32 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的宿主蛋白 HCP 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，加入标准品和待测样品反应，洗涤后加入 *E. coli* 宿主蛋白 HCP 检测抗体，再加入链霉亲和素-辣根过氧化物酶 (SA-HRP)，形成抗体-抗原-抗体-bio-SA-HRP 复合物。经洗涤后，加入显色液显色，显色液在 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 *E. coli* 宿主蛋白 HCP 的量呈正相关。

主要组成成分

产品名称	组分	规格	储存温度
盒 1	<i>E. coli</i> HCP 标准品 (20 $\mu\text{g/mL}$)	40 $\mu\text{L} \times 1$ 管 (20 $\mu\text{g/mL}$)	$-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$
	<i>E. coli</i> HCP 检测抗体 (10 \times)	350 $\mu\text{L} \times 1$ 管	
	<i>E. coli</i> HCP SA-HRP (100 \times)	50 $\mu\text{L} \times 1$ 管	
盒 2	浓缩洗液 (20 \times)	25 mL $\times 1$ 瓶	$2-8^{\circ}\text{C}$
	样本稀释液	25 mL $\times 1$ 瓶	
	酶标结合物稀释液	5 mL $\times 1$ 瓶	
	显色液	4 mL $\times 1$ 瓶	
	终止液	3 mL $\times 1$ 瓶	
	抗 <i>E. coli</i> HCP 抗体包被酶标板	32 孔	
	封板膜	5 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、恒温培养箱、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

储存条件及有效期

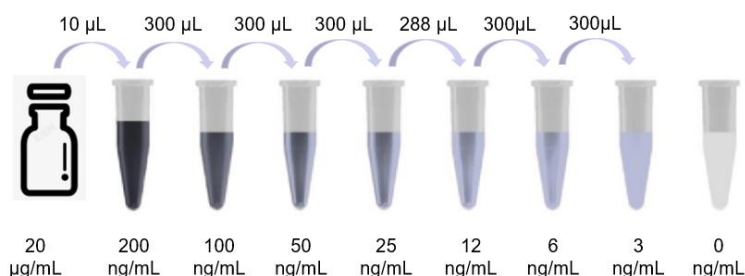
- 盒 1 于 $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ 保存，盒 2 于 $2-8^{\circ}\text{C}$ 避光保存，有效期为 12 个月。
- 酶标板拆封使用后，剩余部分应放于铝箔袋中密封，在 $2-8^{\circ}\text{C}$ 保存，开封后在 14 天内用完。
- 盒 1、盒 2 使用结束需及时放回相对应的储存条件下保存。
- 盒 1 中试剂应减轻反复冻融次数，建议不超过 6 次。
- 产品批号及有效期见产品包装标签。

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)	样本稀释液 体积 (μL)	总体积 (μL)	标准品终浓度 (ng/mL)	剩余体积 (μL)
----	------------------	----------------------------	-------------------------------	--------------------------	-------------------	---------------------------

A	20000	10	990	1000	200	700
B	200	300	300	600	100	300
C	100	300	300	600	50	300
D	50	300	300	600	25	312
E	25	288	312	600	12	300
F	12	300	300	600	6	300
G	6	300	300	600	3	300
H	3	/	300	300	0	300

B. 洗涤工作液配制：浓缩洗液（20×）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（20×）：纯化水=1：19 体积比进行稀释配制。

C. 酶标结合物工作液配制：酶标结合物稀释液与 SA-HRP(100×) 充分平衡至室温后，根据实验设计计算所需用量，按 SA-HRP(100×)：酶标结合物稀释液=1：99 体积比进行稀释配制。建议实际配制体积比理论用量多 10%。

D. 检测抗体工作液配制：样本稀释液与检测抗体（10×）充分平衡至室温后，根据实验设计计算所需用量，按检测抗体（10×）：样本稀释液=1：9 体积比进行稀释配制。建议实际配制体积比理论用量多 10%。

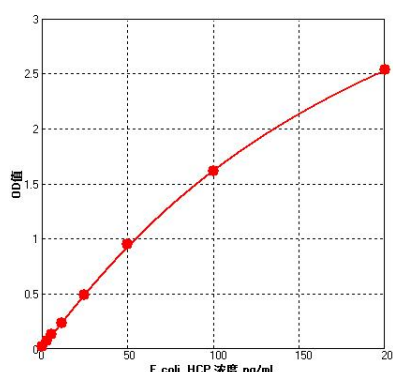
3. 检测步骤

- 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：稀释好的 *E. coli* HCP 标准品与样本，按每孔 100 μL 加样于板孔中，同时设阴性孔。加完样品后，用封板膜封板置于 37℃ 恒温培养箱，孵育 90 min。
- 3) 洗涤：弃去各孔内液体，用洗涤工作液注满微孔（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) 加检测抗体工作液：每孔加检测抗体工作液 100 μL，用封板膜封板后置 37℃ 恒温培养箱，孵育 45 min。
- 5) 洗涤：弃去各孔内液体，用洗涤工作液注满微孔（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。
- 6) 加酶标结合物工作液：每孔加酶标结合物工作液 100 μL，用封板膜封板后置 37℃ 恒温培养箱，孵育 30 min。
- 7) 洗涤：弃去各孔内液体，用洗涤工作液注满微孔（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。
- 8) 显色：每孔分别加单组份显色液 100 μL，轻微振荡混匀后置 37℃ 显色 15 min。
- 9) 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 450nm，参考波长 630nm，测定各孔吸光值。

4. 结果分析

- 1) 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。
- 2) 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。
- 3) 建议设置复孔，应先计算其平均值再进行曲线拟合。
- 4) 以理论浓度标准品绘制的标准曲线如下：

<i>E. coli</i> HCP 浓度 ng/mL	OD 值
200	2.534
100	1.611
50	0.949
25	0.492
12	0.238
6	0.132
3	0.075
0	0.023



待测样品测 OD 值代入标准蛋白 HCP

5) 将定的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。

产品性能

本试剂盒经充分评估，标曲范围为 3-200 ng/mL，定量限为 3 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用品中 *E. coli* 宿主蛋白 HCP 的含量。

货号：BP-QP-E001-32

E. coli 宿主蛋白残留检测试剂盒
(酶联免疫吸附法)

2024V01



注意事项

1. 使用本试剂盒前，请仔细阅读产品说明书。
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。
5. 标准品、酶标结合物体积较小，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。