

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



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 μg/mL)	40 μL × 1 管 (20 μg/mL)	-20±5° C
	<i>E. coli</i> HCP 检测抗体 (10×)	350 μL × 1 管	
	<i>E. coli</i> HCP SA-HRP (100×)	50 μL × 1 管	
盒 2	浓缩洗液 (20×)	25 mL × 1 瓶	2–8° C
	样本稀释液	25 mL × 1 瓶	
	酶标结合物稀释液	5 mL × 1 瓶	
	显色液	4 mL × 1 瓶	
	终止液	3 mL × 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

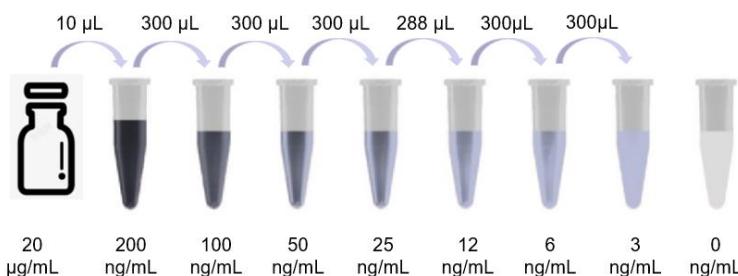
- 盒 1 于 -20±5° C 保存，盒 2 于 2–8° C 避光保存，有效期为 12 个月。
- 酶标板拆封使用后，剩余部分应放于铝箔袋中密封，在 2–8° C 保存，开封后在 14 天内用完。
- 盒 1、盒 2 使用结束需及时放回相对应的储存条件下保存。
- 盒 1 中试剂应减轻反复冻融次数，建议不超过 6 次。
- 产品批号及有效期见产品包装标签。

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

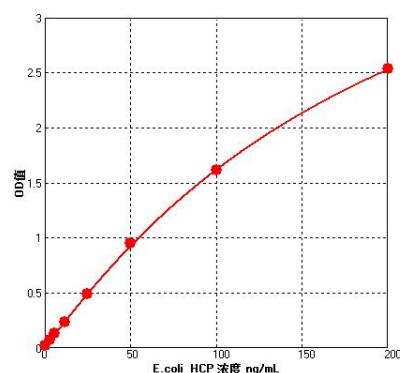
- 1) 酶标板孔排列：根据实验量从铝箔袋中取出相应数量板条，剩余的板条放回铝箔袋中密封好，2-8°C保存。
- 2) 加样：稀释好的*E. coli* HCP标准品与样本，按每孔100 μL加样于板孔中，同时设阴性孔。加完样品后，用封板膜封板置于37°C恒温培养箱，孵育90 min。
- 3) 洗涤：弃去各孔内液体，用洗涤工作液注满微孔（至少300 μL/孔），静置30秒后弃去孔内液体；重复4次，最后一次洗板完成后在面巾纸上拍干。
- 4) 加检测抗体工作液：每孔加检测抗体工作液100 μL，用封板膜封板后置37°C恒温培养箱，孵育45 min。
- 5) 洗涤：弃去各孔内液体，用洗涤工作液注满微孔（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°C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°C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R²≥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

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。



待测样品测
OD 值代入标
主蛋白 HCP

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。