

货号: BP-QP-H005-96

## HEK293 宿主蛋白残留检测试剂盒 (酶联免疫吸附法·一步法)



### 产品名称

HEK293 宿主蛋白残留检测试剂盒 (酶联免疫吸附法·一步法)

### 规格

96 T/盒

### 预期用途

本试剂盒适用于 HEK293、HEK 293F 和 HEK293T 来源的生物制品中宿主细胞蛋白（重组蛋白类、细胞和基因治疗类等）的定量检测，助力生物制品纯化工艺过程中的杂质监控以及终产品的放行检测。

首次使用本试剂盒前建议确认试剂盒与检测样本的匹配性，评估是否存在样本基质干扰及确定合适的样本稀释比例。

本试剂盒仅供研究使用，不可用于临床。

### 检验原理

本产品使用双抗体夹心 ELISA 测定样品中的 HEK293 HCPs 浓度。在固相载体酶标板上包被抗 HEK293 HCP 特异性抗体，加入抗 HEK293 HCP 酶结合物和标准品或待测样品充分混合反应，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 HEK293 HCPs 的浓度呈正相关。每次实验通过试剂盒内的标准品生成标准曲线，将待测样品的 OD 值代入标准曲线方程，从而计算出样本中 HEK 293 HCPs 浓度，实现定量检测。

### 主要组成成分

	组分	规格	储存温度
盒 1	HEK293 HCP 标准品 (12.5 μg/mL)	30 μL×1 管	-20°C
盒 2	抗 HEK293 HCP 抗体预制酶标板	12 × 8, 96T	2-8°C
	浓缩洗液 (20×)	50 mL×1 瓶	
	样本稀释液	50 mL×1 瓶	
	抗 HEK293 HCP 酶结合物工作液	12 mL×1 瓶	
	显色液	12 mL×1 瓶	
	终止液	6 mL×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

1. 盒1于-20°C保存，盒2于2-8°C避光保存，有效期为12个月。
2. 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。
3. 盒1、盒2使用结束需及时放回相对应的储存条件下保存。
4. 盒1中试剂应减少反复冻融次数。
5. 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)
A	12500	4	246	250	200	130
B	200	120	200	320	75	220
C	75	100	200	300	25	200
D	25	100	150	250	10	150
E	10	100	150	250	4	250
F	0	200	200	200	0	200

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°C保存。
- (2) 加酶结合物和样品：使用前将酶结合物工作液摇匀，每孔加酶结合物工作液100 μL，随后每孔加标准品或待测样品50μL，用封板膜封板后置微孔板振荡器室温孵育120分钟
- (3) 洗涤：弃去各孔内液体，用PBST洗液注满微孔（350μL/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100μL，室温避光静置显色15分钟。
- (5) 测定：每孔加终止液50μL，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。

## 结果分析

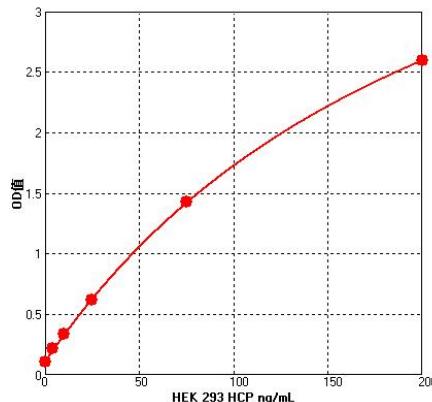
- 1) 初次使用本产品，建议对待测样品稀释3个浓度梯度做预实验，具体稀释比例根据不同纯化工艺阶段而定，确保其中一个稀释倍数的检测结果能落在检测区间内。后续检测根据预实验结果做样品稀释。可在开展实验前与我司技术人员进行细节沟通。
- 2) 如待测样品浓度的OD值超出标准曲线最高值，宜对样品做进一步稀释再检测。
- 3) 本试剂盒建议以标准品浓度作为横坐标，OD值为纵坐标绘制标准曲线，采用四参数方式进行曲线拟合。标准曲线相关系数R<sup>2</sup>≥0.99，否则实验无效。

**HEK293 宿主蛋白残留检测试剂盒**  
**(酶联免疫吸附法·一步法)**



- 4) 如有设置复孔，应先计算其平均值。
- 5) 以理论浓度标准品绘制的标准曲线如下

HEK 293 HCP 浓度 ng/mL	OD 均值
200	2.598
75	1.643
25	0.621
10	0.335
4	0.218
0	0.106



- 6) 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 HEK 293 HCPs 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 4-200 ng/mL，检测限为 2 ng/mL；板内精密度小于 10%，板间精密度小于 15%；准确度为 80-120%。

本试剂盒仅用于定量样品中 HEK 293 HCPs 的浓度。

## 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。