

E.coli HCP ELISA 检测试剂盒

产品描述

本品采用双抗夹心法检测样本中 E.coli HCP 含量，将抗体预包被在微孔板上，将标准品与待测样本加入到已包被的反应孔内进行孵育。存在的蛋白会定量的与微孔板中的抗体结合，洗涤除去未结合物，加入生物素标记的抗蛋白抗体，最后加入亲和素标记 HRP，形成抗体-抗原-生物素抗体-酶标亲和素复合物，通过 TMB 显色程度指示样品中蛋白含量。使用前请仔细阅读说明书并检查试剂盒组分。本试剂盒采用双抗夹心法定量分析以大肠杆菌为表达菌株的生物药中宿主蛋白杂质，可检测大肠杆菌宿主蛋白杂质所需要的全部组分。

检测范围：10-810ng/mL
定量限：10ng/mL
检测限：3.3ng/mL
精密度：CV%≤10%，RE%≤±15%

订购信息

产品名称	货号	规格
E.coli HCP ELISA 检测试剂盒	91-25-0016	96T

产品组分

组分	规格	配制
E.coli HCP Coated Plate(包被酶标板)	8孔×12条×1块	即用型
Anti- HCP-Biotin(检测抗体)	150μL×1管	1:100 用稀释缓冲液稀释
Streptavidin HRP(酶结合物)	375μL×1管	1:40 用稀释缓冲液稀释
E.coli HCP Standard(标准品)	600μL×1管(2430ng/mL)	按建议稀释方式操作
Diluent Buffer (稀释液)	1g×1瓶	溶解在 100ml 的 1XPBS-T 中
10×PBS-T Wash Buffer(10×PBS-T 洗液)	50mL×1瓶	1:10 用去离子水稀释
TMB Substrate(显色液)	15mL×1瓶	即用型
Stop Solution(终止液)	15mL×1瓶	即用型
封板膜	1张	即用型
说明书	1份	即用型

运输与保存

2~8℃避光保存，有效期 8 个。

需自行准备的材料：

- (1)酶标仪
- (2)微孔板恒温振荡器
- (3)微量微量加液器及吸头
- (4)去离子水
- (5)全新滤纸
- (6)涡旋振荡器

试剂配制

(1)平衡： 将所需试剂移到室温(18~25℃)平衡 30 分钟。

(2)配液：

① 1×PBS-T 洗涤液：计算实验所需工作液体积，取适量 10×PBS-T 洗液，用去离子水 1:10 稀释稀释，混匀后备用。

② 检测抗体工作液：计算实验所需工作液体积，取适量生物素抗体用稀释液 1:100 稀释，充分混匀备用。

③ 酶结合物工作液：计算实验所需工作液体积，取适量酶结合物用稀释液 1:40 稀释，充分混匀备用。

④ 标准品及样品使用稀释液进行稀释。

(3)标准品稀释：

管号	标准液浓度 (ng/mL)	标准液体积 (μ L)	稀释液体积 (μ L)	总体积 (μ L)	终浓度 (ng/mL)	剩余体积 (μ L)
7	2430	110	220	330	810	220
6	810	110	220	330	270	220
5	270	110	220	330	90	220
4	90	110	220	330	30	220
3	30	110	220	330	10	220
2	10	110	220	330	3.3	330
1			220	220	0	220

操作步骤

(1)使用前，将所有试剂充分混匀，避免产生气泡。

(2)根据实验孔数量，确定所需的板条数目，剩余板条放回含干燥剂的铝箔袋，密封。

(3)加样：每孔加入 100 μ L 标准品、样品、阴性对照至相应孔中。用封板膜封板后在室温下反应 1.5h。

(4)洗涤：弃去各孔内液体，用 1 \times PBS-T 洗涤液注满微孔(250 μ L/孔),静置 30s 后弃去孔内液体；重复 3 次，每一次洗板完成后在滤纸上拍干。

(5)加生物素检测抗体工作液：每孔加生物素检测抗体工作液 100 μ L，用封板膜封板后室温下反应 45 分钟。

(6)洗涤：弃去各孔内液体，用 1 \times PBS-T 洗涤液注满微孔(250 μ L/孔),静置 30s 后弃去孔内液体；重复 3 次，每一次洗板完成后在面巾纸上拍干。

(7)加酶结合物工作液：每孔加酶结合物工作液 100 μ L，用封板膜封板后室温下反应 30 分钟。

(8)洗涤：弃去各孔内液体，用 1 \times PBS-T 洗涤液注满微孔(250 μ L/孔),静置 2min 后弃去孔内液体；重复 3 次，每一次洗板完成后在面巾纸上拍干。

(9)显色：每孔分别加底物显色液 100 μ L，轻微振荡混匀后用封板膜封板置 25 $^{\circ}$ C 显色 15 分钟。

(10)测定：每孔加终止液 100 μ L，轻微混匀。选择酶标仪主波长 450nm，测定各孔吸光值 (OD 值)。

结果处理

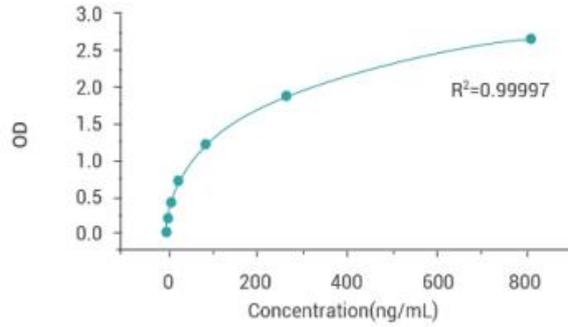
本产品建议采用四参数的拟合方式进行线性拟合及计算。

标准曲线 OD 处理(见下例，仅为示例，具体以实际测定为准)：

标准品浓度 (ng/mL)	OD 值(1)	OD 值(2)	平均值
810	2.659	2.658	2.659
270	1.902	1.908	1.905
90	1.213	1.194	1.204
30	0.720	0.723	0.722
10	0.408	0.41	0.409
3.3	0.228	0.231	0.230
0	0.047	0.050	0.049

以标准品理论浓度与对应 OD 值进行四参数拟合，得到标准曲线(如下图所示)

苏州欣协生物科技有限公司



检验方法的局限性

(1)本试剂仅用于检测样本中 E.coli HCP 组分的含量。

注意事项

(1)试剂应按标签说明储存，使用前室温平衡。

(2)预包被板条使用前，请平衡至室温再打开外包装袋，实验中不用的板条应立即放回包装中密封封口，4℃可保存一个

月。其余不用试剂应包装好或盖好。

(3)标准品、生物素及酶结合物体积量很小，使用前请短暂离心，以使管壁或管盖的液体沉积到管底。

(4)实验操作中请使用一次性的吸头，避免交叉污染。

(5)使用前检查试剂盒内各种试剂。试剂稀释、加样和终止反应应充分混匀或摇匀对实验结果尤为重要。

(6)洗涤过程中反应孔中残留的洗涤液应在洁净的纸巾上充分拍干，直至看不到水印。勿将纸巾直接放入反应孔中吸水。

(7)底物显色液对光敏感，避免长时间暴露于光下，避免与金属接触影响结果。

(8)本产品为一次性使用的试剂盒，请在效期内使用。