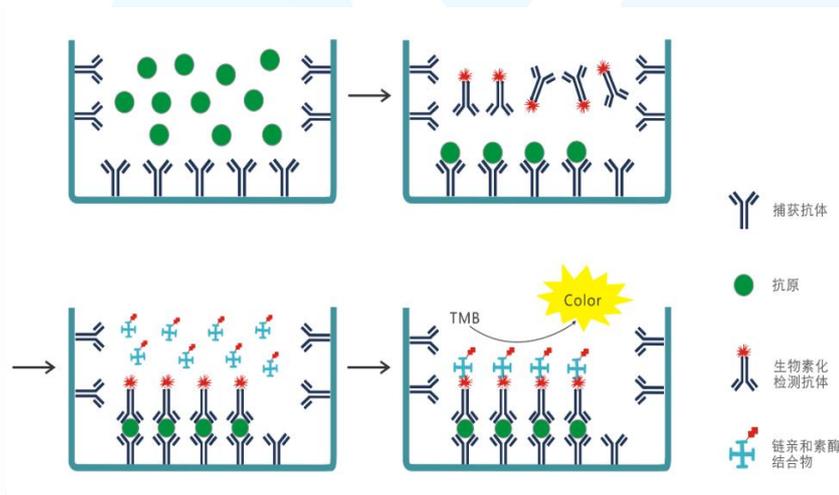


CHO 细胞 HCP (宿主蛋白) 残留检测试剂盒 (91-25-0025)

【检测原理】

本方法采用一步酶联免疫ELISA法。含有CHOK1 HCP 的样品可以与 HRP 标记的山羊抗 CHOK1 抗体以及包被在酶标板上抗CHOK1抗体同时反应,最终形成一种夹心复合物的固相抗体 -HCP- 标记抗体。通过清洗酶标板可以去除未结合的抗原抗体。向孔中加入TMB底物充分反应后,加入终止液后停止显色,用酶标仪读取反应溶液在 450/650nm处的OD或吸光值。OD值或吸光值与溶液中的HCP含量成正比。据此可以根据标准曲线计算出溶液中的HCP浓度。



检测原理示意图

【试剂盒组分】

序号	试剂盒组分	96孔	配制
1	反应板	8孔×12条	即用型
2	标准品 (0.01mg/mL)	0.05mL	按瓶签标识进行稀释
3	检测抗体 (100×)	0.12mL	按瓶签标识进行稀释
4	酶结合物 (100×)	0.12mL	按瓶签标识进行稀释
5	稀释液	50mL	即用型
6	浓缩洗涤液 10×	50mL	按瓶签标识进行稀释
7	显色剂 (避光)	12mL	即用型
8	终止液	6mL	即用型
9	封板膜	4	即用型
10	自封铝箔袋	1	即用型
11	说明书	1	

【储存条件】

- 1.未开封试剂2~8°C保存，有效期12个月。
- 2.试剂开封后2~8°C保存且需要在6周内用完，其中开封的反应板务必连同干燥剂保存于自封铝箔袋中。

【其他实验材料】(不提供，但可协助购买)：

- 1.酶标仪(检测波长450nm，校正波长650nm)
- 2.高精度可调移液器及吸头: 0.5-10, 2-20, 20-200, 200-1000 μ l; 一次检测样品较多时，最好用多通道移液器
- 3.自动洗板机或洗瓶
- 4.恒温混匀仪或等效设备（能够保持37°C和400-600rpm的振板速度）
- 5.双蒸水或去离子水、吸水纸、量筒

【试剂准备】

- 1.提前30min从冰箱中取出试剂盒，平衡至室温，使用后需立即放回2-8°C保存。
- 2.10 \times 浓缩洗涤液与纯化水按1：9体积比混合成洗涤工作液，未用完的放回2-8°C。
- 3.标准品 (0.01mg/mL) 用稀释液稀释至100ng/mL、50ng/mL、25ng/mL、12ng/mL、6ng/mL、3ng/mL、0.7ng/mL、0ng/mL，仅供当次试验使用。

标准品稀释方法：

编号	终浓度 (ng/mL)	稀释方法	
		稀释液	工作标准品加量
A	100	0.495mL	5 μ L浓缩标准品
B	50	0.25mL	0.25mL A 溶液
C	25	0.25mL	0.25mL B 溶液
D	12	0.26mL	0.24mL C 溶液
E	6	0.25mL	0.25mL D 溶液
F	3	0.25mL	0.25mL E 溶液
G	0.7	0.23mL	0.07mL F 溶液
H	0	0.25mL	

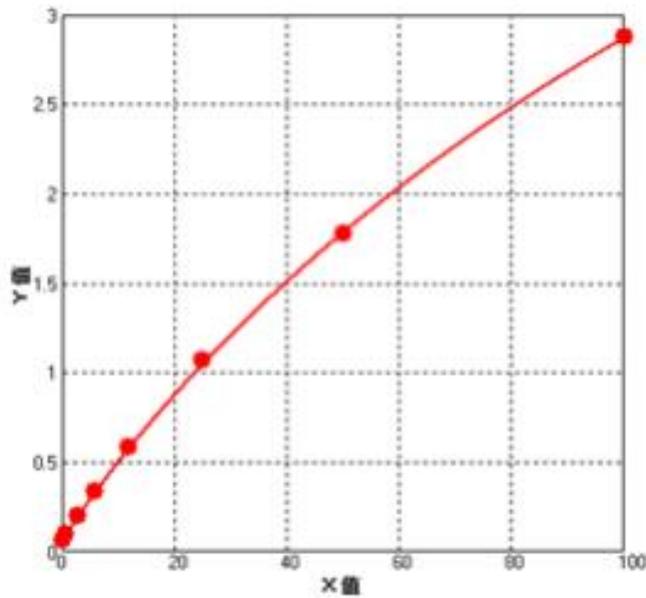
4. 100×检测抗体用稀释液稀释100倍配制成检测抗体工作液，使用前20分钟按当次试验所需用量准备，仅供当次试验使用。
5. 100×酶结合物用稀释液稀释100倍配制成酶结合物工作液，使用前20分钟按当次试验所需用量准备，仅供当次试验使用。

【操作步骤】

- 1.从室温平衡后的铝箔袋中取出所需板条，剩余板条连同干燥剂保存于自封铝箔袋中并放回2-8°C。
- 2.提前准备好样本和不同浓度标准品。
- 3.设置标准品孔和样本孔，建议所有标准品和待测样本进行双复孔测定。标准品孔加入100μL不同浓度的标准品，样本孔中加入100μL待测样本。用封板膜封住反应孔，37°C振荡（500rpm）孵育60分钟。
- 4.提前准备好洗涤工作液和检测抗体工作液。
- 5.甩净孔内液体，倒扣于吸水纸上拍干。每孔加300μL洗涤工作液，静置15-30s，甩净孔内液体，倒扣于吸水纸上拍干，如此重复洗板5次。
- 6.每孔加入100μL检测抗体工作液，用封板膜封住反应孔，37°C振荡（500rpm）孵育30分钟。
- 7.提前准备好酶结合物工作液。
- 8.甩净孔内液体，倒扣于吸水纸上拍干。每孔加300μL洗涤工作液，静置15-30s，甩净孔内液体，倒扣于吸水纸上拍干，如此重复洗板5次。
- 9.每孔加入100μL酶结合物工作液，用封板膜封住反应孔，37°C振荡（500rpm）孵育30分钟。
- 10.提前按需取出一定量显色剂于室温避光平衡30分钟。
- 11.甩净孔内液体，倒扣于吸水纸上拍干。每孔加300μL洗涤工作液，静置15-30s，甩净孔内液体，倒扣于吸水纸上拍干，如此重复洗板5次。
- 12.每孔加入100μL显色剂，用封板膜封住反应孔，37°C静置避光孵育15分钟。
- 13.每孔加入50μL终止液，15分钟内进行检测，设定酶标仪检测波长为450nm、矫正波长为650nm。

【结果判断】

- 1.各孔OD_{450nm}数值减去各孔OD_{650nm}数值得到各孔光吸收值，再计算各标准品和样本的光吸收值均值。以标准品浓度为横坐标，以对应的光吸收值均值为纵坐标绘制标准曲线。
- 2.标曲的拟合软件可以用酶标仪自带的软件，也可以用专业的标曲制作软件（如ELISA Calc）。拟合方式可以选择Logistic（4P）、三次样条插值等非线性拟合方式。
- 3.典型校准曲线如下图：



【检测性能】

- 1.检测范围：0.7-100ng/mL。
- 2.检出限： ≤ 0.3 ng/mL。
- 3.最低定量限：0.7ng/mL。
- 4.精密度：批内变异系数（CV） $\leq 10\%$ ，批间CV $\leq 15\%$ （最低定量限的CV $\leq 20\%$ ）。
- 5.准确度：回收率80%~120%（最低定量限回收率70%~130%）。
- 6.特异性：100ng/mL毕赤酵母和E.coil HCP测值低于0.3ng/mL。

【检测方法的局限性】

- 1.本品仅适用于研究用途，不用于临床诊断。
- 2.本品仅适用于CHO细胞系生产工艺来源的宿主细胞残留蛋白含量检测。
- 3.样品pH应保证在6.5-8.5之间，过低或过高的pH可能会造成测量值异常。

【注意事项】

- 1.不同批次试剂盒不建议混用。
- 2.样品应澄清，不溶性沉淀应离心去除。
- 3.样品首次测定时，建议通过梯度稀释确定最小稀释倍数。

- 4.为保证较好的准确度和重复性，请进行两复孔或三复孔操作。
- 5.标准品和样品的稀释混匀要轻柔充分，勿产生大量泡沫。
- 6.加样时应将所加物加入酶标板孔中底部，避免加在孔壁上部。加样时注意不可溅出，不可产生气泡。
- 7.若发现浓缩洗涤液中有结晶，可在37°C水浴锅中孵育，待结晶完全溶解后再混匀稀释至工作浓度。
- 8.洗涤过程中应使洗涤工作液浸泡反应板15-30s后再甩净，以充分洗涤非特异性吸附的成分。
- 9.洗涤过程中甩净孔中液体并拍干后应立即加后续溶液，勿让酶标板处于干燥状态，以防影响试剂盒检测性能。
- 10.检测抗体(100×)和酶结合物(100×)在使用前请快速离心，将管盖中残留的试剂甩到管底，防止试剂的污染和 损失。
- 11.显色剂应是无色或淡黄色透明液体，吸取时务必更换干净的吸头，防止HRP污染。如发现已有淡蓝色，请弃用。
- 12.显色温度和时间对实验结果至关重要，应准确把握。
- 13.由于叠氮钠会抑制HRP活性，使检测值偏低，样本中应避免引入叠氮钠。

The logo for Xinbio, featuring a stylized 'X' and 'B' in light blue and grey, followed by 'inBio' in a grey sans-serif font.

苏州欣协生物科技有限公司

电话: 0512-63037851

网址: www.xinbiotech.cn

邮箱: info@szxxbio.com