



E.coli HCP残留检测试剂盒-Plasmid (ELISA两步法)

使用说明书

本产品适用于采用碱裂解工艺提取的质粒中间品、原液及终产品的 *E. coli* HCP 定量检测。首次使用本试剂盒前建议先完成产品的适用性研究，确认样本基质是否存在干扰以及合适的样本检测稀释条件。



CAT. No.: MM-KEP01-96T

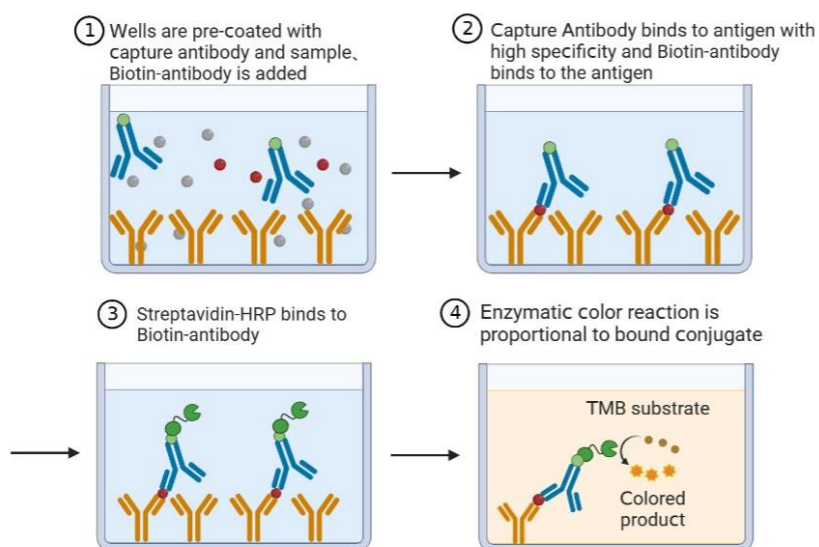
2024年04月20日 V1.0

使用说明书

一、 产品原理

本实验采用双抗体夹心ELISA法。抗*E.coli* HCP抗体已包被于酶标板上，向酶标板中同时加入校准品（或待测样品）和生物素化的抗*E.coli* HCP抗体，样本和校准品中的*E.coli* HCP会与加入于孔中的生物素化的抗*E.coli* HCP抗体及包被于酶标板上的抗体结合，形成免疫复合物，通过洗板，游离的成分被洗去；加入辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素，链霉亲和素与生物素特异性结合，通过洗板，游离的成分被洗去。加入TMB（3,3',5,5'-四甲基联苯胺）底物反应，HRP催化H₂O₂氧化TMB生成蓝色产物（最大吸收峰655nm），随后加入终止液终止酶催化反应，生成黄色产物（最大吸收峰450nm）。通过酶标仪测定450nmOD值，*E.coli* HCP浓度与OD450值之间呈正相关，可通过试剂盒内的校准品生成的校准曲线计算出样本中*E.coli* HCP浓度。

检测原理示意图：



二、 产品性能

- A. 灵敏度：*E.coli* HCP 检测下限（LOD）不高于 0.4ng/mL，定量下限：1.0ng/mL；
- B. 精密度：定量限范围内板内、板间样本浓度变异系数均<20%；
- C. 特异性：与 CHO、Vero、HEK293 等宿主蛋白均无交叉反应。

三、 产品应用

本产品是通用型检测试剂盒，适用采用碱裂解工艺提取的质粒中间品、原液及终产品的*E.coli* HCP定量检测。

使用说明书

四、产品组分及储存条件

编号	名称	96Tests	保存条件
1	<i>E.coli</i> HCP Standard	3	2~8℃
2	<i>E.coli</i> HCP Microplate	8×12	2~8℃
3	<i>E.coli</i> HCP100×Biotin~Antibody	60μL	2~8℃
4	100×HRP~Streptavidin	120μL	2~8℃
5	<i>E.coli</i> HCP Assay Diluent	2×25mL	2~8℃
6	20×Wash Buffer Concentrate	30mL	2~8℃
7	Substrate Solution	12mL	2~8℃（Light ~ Sensitive）
8	Stop Solution	12mL	2~8℃
9	Plate sealer	3	/
10	User Manual	1	/

五、实验流程

1. 试验所需自备试验器材

- A. 酶标仪（检测波长 450nm，校正波长 570nm 或 630nm）；
- B. 高精度加液器及一次性吸头：0.5~10μL，2~20μL，20~200μL，100~1000μL；
- C. 微孔板振荡器，去离子水。

2. 样本收集

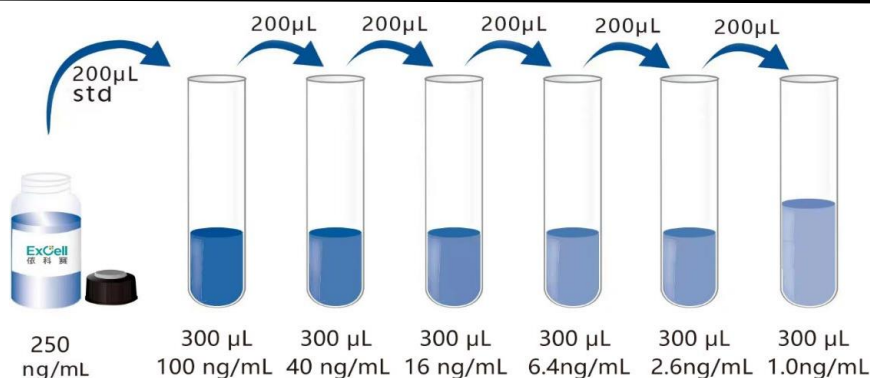
- A. 样本应澄清，沉淀应离心去除；
- B. 可根据样本的实际情况，做适当稀释（建议首次使用先行完成适用性研究，确定样本稀释倍数）。

3. 检测前准备工作

- A. 建议提前 20 分钟从冰箱中取出试剂盒，以平衡至室温；
- B. 将 20×Wash Buffer Concentrate 用去离子水稀释成洗涤工作液，未用完的放回冰箱；
- C. 校准品：冻干 *E.coli* HCP Standard 中加入 *E.coli* HCP Assay Diluent 稀释至 250.0ng/mL，振荡混匀，静置 15 分钟，待其充分溶解后，进行 2.5 倍稀释，形成如下浓度的校准点：250.0、100.0、40.0、16.0、6.4、2.6、1.0、0ng/mL；

校准品稀释方法图例如下：

使用说明书



注：复溶校准品原液（250.0ng/mL）若未用完请分装后放入-18℃及以下冰箱内保存，可保存两个月，已稀释的校准品请废弃。

- D. 生物素化抗体工作液：按当次试验所需用量，用 *E.coli* HCP Assay Diluent 将 *E.coli* HCP100×Biotin~Antibody 稀释 100 倍，配制成生物素化抗体工作液，使用前 30 分钟准备，仅供当日使用；
- E. 酶结合物工作液：按当次试验所需用量，用 *E.coli* HCP Assay Diluent 将 100×HRP~Streptavidin 稀释 100 倍，配制成酶结合物工作液。使用前 30 分钟准备，仅供当日使用。

4. 洗涤方法

- A. 手动洗板：每孔加洗涤工作液 300µL，静置 10 秒后甩尽孔内液体，在吸水纸上拍干，洗板 5 次。
- B. 自动洗板机：要求注入的洗涤液为 300µL，注入与吸出间隔 20~30 秒。

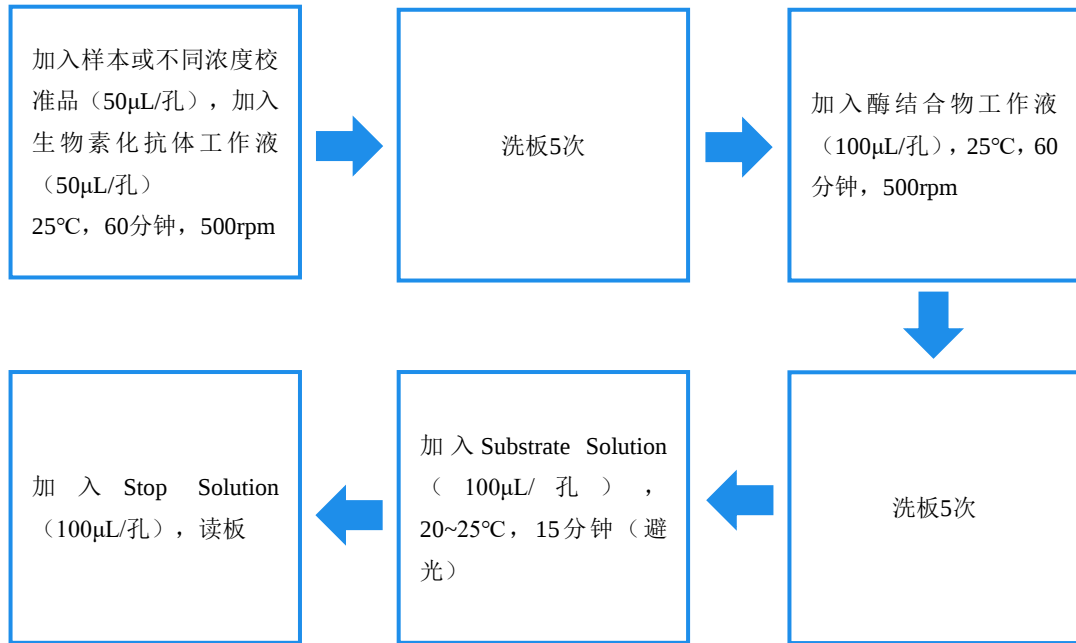
5. 操作步骤

- ① 从已平衡至室温的密封袋中取出试验所需板条，未用的板条和干燥剂放回铝箔袋内封存于 2~8℃冰箱；
- ② 留空白孔（若使用双波长读板，空白孔可以不设）；
- ③ 提前准备好样本、校准品及生物素化抗体工作液；
- ④ 将不同浓度校准品或样本分别加入相应孔中（0ng/mL 孔加 *E.coli* HCP Assay Diluent），50µL/孔，随后将生物素化抗体工作液加入相应孔中，50µL/孔，用封板胶纸封住反应孔。25℃振荡孵育 60 分钟，使用微量振荡器（500rpm）；
- ⑤ 提前准备好酶结合物工作液；
- ⑥ 孵育结束后，甩尽 ELISA 板孔内液体，洗板 5 次；
- ⑦ 除空白孔外，加入酶结合物工作液 100µL/孔，用封板胶纸封住反应孔。25℃振荡孵育 60 分钟，使用微量振荡器（500rpm）；

使用说明书

- ⑧ 甩尽孔内液体，洗板 5 次；
- ⑨ 加入 Substrate Solution（包括空白孔）100 μ L/孔，20~25 $^{\circ}$ C，避光孵育 15 分钟；
- ⑩ 加入 Stop Solution（包括空白孔）100 μ L/孔，混匀后立即用酶标仪测量 OD₄₅₀ 值（酶标仪设置双波长，检测波长 450nm，参考波长 570nm 或 630nm；若酶标仪只能设置单波长读数，则每个校准品和样本的 OD 值应减去空白孔的 OD 值）。

6. 操作流程图



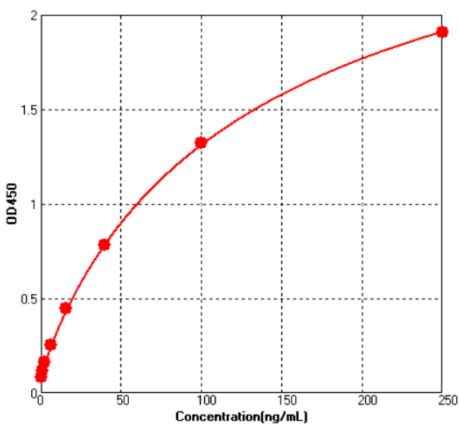
六、 结果分析

1. 校准曲线制作：以校准品浓度作横坐标，OD 值作纵坐标，通过软件拟合选取最佳标准曲线（推荐使用四参数拟合方程），根据样本 OD 值计算样品浓度；
2. 校准曲线的 $R^2 \geq 0.99$ ，去除明显异常值之后，定量范围内的校准曲线各点的回算浓度与理论浓度的偏差应在 20%以内，定量上限和下限两点的偏差在 25%以内；
3. 若样本 OD 值高于校准曲线上限，应适当稀释后重新检测，最后计算浓度时应乘以稀释倍数；
4. 样本浓度的计算应使用当次实验校准曲线。

使用说明书

示例数据：

Standard (ng/mL)	OD ₄₅₀₋₆₃₀			浓度 (ng/mL)		
	1	2	3	1	2	3
250	1.918	1.958	1.851	253.2	270.3	227.5
100	1.283	1.394	1.278	95.2	113.1	94.5
40	0.784	0.811	0.754	39.6	41.8	37.1
16	0.444	0.462	0.429	16.2	17.2	15.3
6.4	0.241	0.263	0.247	5.9	6.9	6.2
2.6	0.162	0.163	0.155	2.7	2.7	2.4
1.0	0.116	0.121	0.117	1.0	1.2	1.0
0	0.075	0.089	0.076	-----	-----	-----
R ²	0.99982					



注意：示例数据仅供参考，数据分析使用ELISACalc软件进行四参数拟合。

七、 注意事项

1. 试剂盒使用前请保存在 2~8℃。除复溶后的标准品，其他成分不可冻结。
2. 浓缩生物素化抗体，浓缩酶结合物体积小，运输中颠簸和可能的倒置，会使液体沾到管壁或瓶盖，因此使用前请瞬时离心，以使附着管壁或瓶盖的液体沉积到管底；
3. 从冰箱取出的浓缩洗涤液可能有结晶，属正常现象，加热至 37℃使结晶完全溶解后再配制洗涤液；
4. 若需分次使用标准品，在其复溶后应按每次用量分装，将其放在-18℃及以下储存，避免反复冻融；
5. 不同批号的试剂盒组份避免混用；
6. 溶液配置需注意充分混匀，以保证加入到孔内的液体是均一的；
7. 酶免试验中标准品和样本建议至少做两重复。

八、 免责声明

1. 试剂盒应按照说明书指导使用，实验者未按说明书指导操作，本公司不对由此导致的试剂盒性能偏离承担责任；
2. 本试剂盒仅用于科学研究及商业化生产，不适用于临床诊断和治疗，否则所产生的一切后果，由实验者承担，本公司概不负责。

关联产品

品牌 Brand	名称 Product	规格 Spec	货号 Art. No.
双墨	宿主细胞残留 DNA（磁珠法）样本前处理试剂盒（手自一体）	100 reactions	MM-KCD-D001
双墨	宿主细胞残留 DNA（磁珠法）预分装样本前处理试剂盒	16 reactions	MM-KCD-D002
双墨	支原体提取试剂盒	50 reactions	MM-KCD-D003
双墨	宿主细胞残留 DNA（磁珠法）样本前处理试剂盒（手工提取）	100 reactions	MM-KCD-D006
双墨	CHO 宿主残留 DNA 检测试剂盒（qPCR）	100 reactions	MM-KCD-P001
双墨	大肠杆菌残留 DNA 检测试剂盒（qPCR）	100 reactions	MM-KCD-P002
双墨	HEK293 宿主残留 DNA 检测试剂盒（qPCR）	100 reactions	MM-KCD-P003
双墨	毕赤酵母宿主残留 DNA 检测试剂盒（qPCR）	100 reactions	MM-KCD-P004
双墨	Vero 宿主残留 DNA 检测试剂盒（qPCR）	100 reactions	MM-KCD-P005
双墨	E1A & SV40LTA 残留 DNA（qPCR）	100 reactions	MM-KCD-P006
双墨	质粒 DNA 残留检测试剂盒（qPCR）	100 reactions	MM-KCD-P007
双墨	293T 细胞残留 DNA 片段检测试剂盒（qPCR）	4×100 reactions	MM-KCD-P008
双墨	E1A 残留 DNA 检测试剂盒（qPCR）	100 reactions	MM-KCD-P009
双墨	重组 C 因子（rFC）荧光法内毒素检测	100 reactions	MM-KCD-P010
双墨	支原体 DNA 检测试剂盒（qPCR）	50 reactions	MM-KCD-P011
双墨	支原体 PCR 检测试剂盒	20 reactions	MM-KCD-P012
双墨	PG13 残留 DNA 检测试剂盒（qPCR）	100 reactions	MM-KCD-P013
双墨	支原体 PCR 检测试剂盒	50 reactions	MM-KCD-P014
双墨	MDCK 细胞残留 DNA 检测试剂盒（qPCR）	100 reactions	MM-KCD-P015
双墨	Hela 细胞残留 DNA 片段检测试剂盒（qPCR）	4×100 reactions	MM-KCD-P016
双墨	Hela 细胞残留 DNA 检测试剂盒（qPCR）	100 reactions	MM-KCD-P017
双墨	Human 残留 DNA 片段检测试剂盒（qPCR）	4×100 reactions	MM-KCD-P018
双墨	Human 残留 DNA 检测试剂盒（qPCR）	100 reactions	MM-KCD-P019
双墨	293T 细胞残留 DNA 检测试剂盒（qPCR）	100 reactions	MM-KCD-P020
双墨	HEK293 残留 DNA 片段检测试剂盒（qPCR）	4×100 reactions	MM-KCD-P021
双墨	Vero 残留 DNA 片段检测试剂盒（qPCR）	4×100 reactions	MM-KCD-P022
双墨	E.coli 总 RNA 残留检测试剂盒（qPCR）	100 reactions	MM-KCD-P023
双墨	CHO 宿主细胞蛋白检测试剂盒（二代）	96 tests	MM-KCP01-96T
双墨	E. coli 残留蛋白检测试剂盒	96 tests	MM-KEP01-96T
双墨	毕赤酵母残留蛋白检测试剂盒	96 tests	MM-KYP01-96T
双墨	293 残留蛋白检测试剂盒	96 tests	MM-KHP01-96T
双墨	卡那霉素（Kanamycin）残留（酶联免疫吸附法）（一步法）	96 tests	MM-KKA01-96T
双墨	庆大霉素（Gentamicin）残留（酶联免疫吸附法）	96 tests	MM-KGE01-96T
双墨	慢病毒滴度（HIV-1 P24）（酶联免疫吸附法）	96 tests	MM-LTE01-96T
双墨	Protein A 检测试剂盒	96 tests	MM-KPA01-96T
双墨	人白介素 6（Human IL-6）定量（酶联免疫吸附法）	96 tests	MM-HIL01-96T
双墨	人干扰素-γ（Human IFN-γ）定量（酶联免疫吸附法）	96 tests	MM-HIF01-96T
双墨	磁力架	24 tubes	MM-PJ-030

详细信息请登录双墨生物官网查看，网址 www.momobiotec.com。

双墨生物

以专业的团队提供专业的产品和技术，服务专业的用户

地址：上海市闵行区春东路555号

网址：www.momobiotec.com

销售/技术热线：13681746024

销售/技术支持：13918897495

邮箱：info@momobiotek.com

