

## 293T HCP ELISA 检测试剂盒说明书

本试剂盒专用于科研，而非用于诊断

Cat. No. HG-HCP001

### 产品简介

本品采用双抗夹心法检测样本中 293T HCP 含量，将 293T 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 293T 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 293T 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。

检测范围：37-27000 ng/mL

定量限：37ng/mL

精密度：CV% ≤ 10%, RE% ≤ ±15%

### 规格

96 T

### 用途

本试剂盒采用双抗夹心法定量分析以 293T 为表达细胞的生物药中宿主蛋白杂质，可检测 293T 宿主蛋白杂质所需要的全部组分。

### 试剂盒组成

组分	规格	配制
293T HCP Coated Plate (包被酶标板)	8 孔 × 12 条	即用型
Anti- 293T HCP -Biotin (检测抗体 100×)	150μL × 1 管	1: 99 用稀释缓冲液稀释
Streptavidin HRP(酶结合物 10×)	375μL × 3 管	1: 9 用稀释缓冲液稀释
293T HCP Standard (标准品)	600μL × 1 管 (81μg/mL)	按建议稀释方式操作
Diluent Buffer (稀释液)	1g × 1 瓶	用 1×PBS-T 现配现用 (1g/100ml)
10×PBS-T Wash Buffer (10×PBS-T 洗液)	50mL × 1 瓶	1: 9 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	5 张	即用型
说明书	1 份	即用型

备注：： 2~8°C 避光保存，有效期 8 个月。

## 需自行准备的材料：

- ◆ 酶标仪
- ◆ 去离子水
- ◆ 微孔板恒温振荡器
- ◆ 全新滤纸
- ◆ 微量加液器及吸头
- ◆ 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，用去离子水进行 10 倍稀释，混匀后备用；

② 稀释液工作溶液：根据实验需求取适量稀释液干粉按（1g/100mL）的比例，用 1×PBS-T 溶解混匀，也可一次性稀释后分装，放置 -20℃ 保存。避免稀释液反复冻融。

③ 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进行 100 倍稀释，充分混匀备用；

④ 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进行 10 倍稀释，充分混匀备用；

⑤ 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 ( $\mu$ L)	稀释液体积 ( $\mu$ L)	总体积 ( $\mu$ L)	终浓度 (ng/mL)	剩余体积 ( $\mu$ L)
8	81000	110	220	330	27000	220
7	27000	110	220	330	9000	220
6	9000	110	220	330	3000	220
5	3000	110	220	330	1000	220
4	1000	110	220	330	330	220
3	330	110	220	330	110	220
2	110	110	220	330	37	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 $\mu$ 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（18~25℃）下反应 1.5h。

4. 洗涤: 弃去各孔内液体, 用 1×PBS-T 洗涤液注满微孔 (250μL/ 孔), 静置 30 秒后弃去孔内液体; 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 100μL, 用封板膜封板后室温 (18~25°C) 下反应 45 分钟。
6. 洗涤: 弃去各孔内液体, 用 1×PBS-T 洗涤液注满微孔 (250μL/ 孔), 静置 30 秒后弃去孔内液体; 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 100μL, 用封板膜封板后室温 (18~25°C) 下反应 30 分钟。
8. 洗涤: 弃去各孔内液体, 用 1×PBS-T 洗涤液注满微孔 (250μL/ 孔), 静置 2 min 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 100μL, 轻微振荡混匀后用封板膜封板置 25°C 避光显色 15 分钟。
10. 测定: 每孔加终止液 100μL, 轻微混匀。选择酶标仪主波长 450nm, 测定各孔吸光值 (OD 值)。

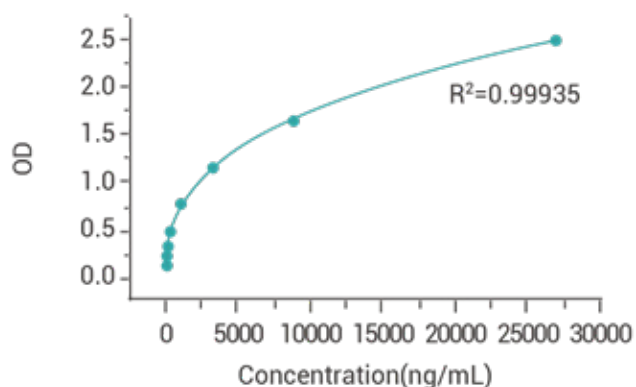
## 结果处理

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
27000	2.507	2.494	2.501
9000	1.73	1.733	1.732
3000	1.126	1.111	1.119
1000	0.773	0.77	0.772
330	0.496	0.475	0.486
110	0.289	0.285	0.287
37	0.205	0.195	0.200
0	0.140	0.137	0.139

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)



## 检验方法的局限性

本试剂仅用于检测样本中 293T 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（18-25°C）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闭封口，4°C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，请在有效期内使用。

## 免责声明

在所有情况下，本公司对此产品所承担的责任仅限于产品价值本身。

