Ver202506

卡那霉素 ELISA 检测试剂盒说明书

Cat.No. HG-KA001

目录

1. 产品简介 3

2. 应用 3

3. 试剂盒规格 3

4. 试剂盒组分 3

5. 储存条件及有效期 5

6. 定义或术语 5

7. 需要准备的试剂、耗材与设备 5

8. 操作步骤 5

9. 结果分析 8

10. 注意事项 10

11. 故障排除 10

12. 参考文献 13

13. 联系方式 13

14. 买方须知 13

1. 产品简介

本试剂盒采用间接竞争 ELISA 方法测定样品中卡那霉素的微量残留。酶标板上预包被偶联抗原，样品中残留的卡那霉素和微孔条上预包被的偶联抗原竞争抗卡那霉素抗体，加入酶标二抗，之后通过加入 TMB 底物显色，使用酶标仪在 450nm/630nm 波长下测定吸光度（OD 值），并计算百分吸光度，样品中卡那霉素的浓度与百分吸光度成负相关。

检测范围：0.05 ng/mL～5 ng/mL

定 量 限：0.05 ng/mL

检 测 限：＜ 0.05 ng/mL

精 密 度：CV% ≤ 10%，RE% ≤ ±15%

2. 应用

适用于定量检测细胞和基因治疗药物原料、中间品和成品中卡那霉素残留。

3. 试剂盒规格

产品名称	产品货号	产品规格
卡那霉素 ELISA 检测试剂盒	HG-KA001	96T

4. 试剂盒组分

组分	规格	配制	存储条件
Coated Plate	8 孔×12 条	即用型	2~8℃
Kan Standard 50 ng/mL	1 mL×1 管	按建议稀释方式操作	
Anti-Kan Biotin	7 mL×1 瓶	即用型	

组分	规格	配制	存储条件
Streptavidin HRP	12 mL×1 瓶	即用型	
Sample Diluent Buffer	30 mL×1 瓶	即用型	
20×Wash Buffer	30 mL×1 瓶	用去离子水 1:19 稀释	
Color Reagent A	8 mL×1 瓶	即用型	
Color Reagent B	8 mL×1 瓶	即用型	
Stop Solution	15 mL×1 瓶	即用型	
封板膜	5 张	/	
说明书	1 份	/	

5. 储存条件及有效期

试剂盒应在 2-8℃条件下避光保存，有效期为 12 个月。开封后，建议在 1 个月内使用。

6. 定义或术语

- OD：吸光度。
- CV（Coefficient of Variation）：变异系数，定义为标准差与平均系数的比值。
- ERC：加标质控。

7. 需要准备的试剂、耗材与设备

- 酶标仪
- 微孔板恒温振荡器（提供孵育温度）
- 涡旋振荡器
- 去离子水
- 吸水纸
- 微量移液器及吸头

8. 操作步骤

8.1. 检测流程图



总时长约 1 小时 10 分钟

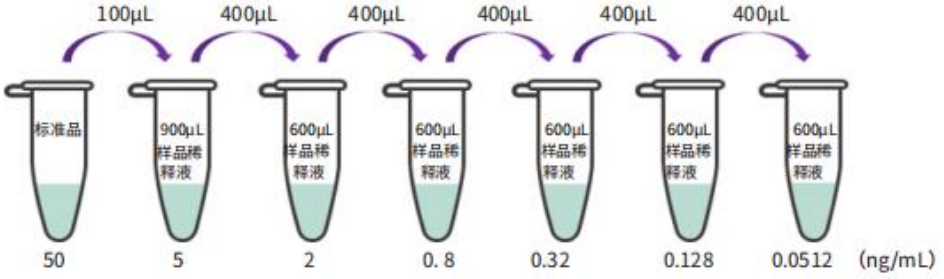
8.2. 准备工作

8.2.1. 试剂盒提前从 2-8°C冰箱取出后，于室温放置至平衡（30 分钟及以上），保证本次实验检测所需试剂。试剂盒开启时要标注开启日期，优先使用先开启的试剂盒，同一批号试剂盒可以混用，不同批号试剂盒不可混用。准备本次实验所需要的检测板条，试剂盒中其它的板条，放回密封袋密封，于 2~8°C保存，以备下次使用。

8.2.2. 洗液（1×）配制：取适量 20×Wash Buffer（20×洗液）用去离子水进行 20 倍稀释。洗液（20×）中如果有结晶形成，应置于室温或 37°C水浴轻轻摇晃，待结晶完全溶解后再进行稀释。

8.2.3. 显色液的配制：将 Color Reagent A（显色液 A）、Color Reagent B（显色液 B）等体积混合，混匀后避光放置。（注意：显色液配置完成之后不能放置太久，一般在使用前 10 分钟配制显色液。如混合后的显色液已经变蓝，请勿使用）。

8.3. 标准曲线的制作：取 100 µL Kan Standard（原浓度 50 ng/mL）+900 µL Sample Diluent Buffer，将标准品稀释至 5 ng/mL， 然后用 2.5 倍梯度稀释方法配制标准品（每次实验使用新配制的标准溶液），如下图：



8.4. 供试品溶液配制：根据预估的实验结果，将供试品用样品稀释液稀释到标准曲线范围内，混匀。

8.5. 加标质控溶液配制：取稀释后的供试品溶液 100 μL，加入 100 μL 的 2 ng/mL 标准品，混匀，即得。

8.6. 样品孵育：每孔对应加入 50 μL 标准品、空白（样品稀释液）、样品，每孔再加入 50μL Anti-Kan Biotin（检测抗体），用封板膜封板，然后置于 25°C避光静置孵育 30 分钟。（注意：必须先加标准品，如果先加抗体会直接和板上抗原反应；孵育过程中如果不封板或者封板不完全，会导致反应液蒸发，导致实验出现误差；所有孵育过程中要尽量避免光线照射）

8.7. 洗板：孵育完成后，小心揭去封板膜，弃去孔中液体，用洗液（1×）洗板 3 次（250 μL/孔），拍干样品孔中的残留液体。（注意：如采用手洗板，加洗液（1×）时需要悬空加液，枪头最好不要碰到孔内壁；每次加入洗液（1×）后静置 30 秒并轻微震荡；拍干时注意每次换新的吸水纸或在纸上干净的区域拍干。）

8.8. 酶标二抗孵育：每孔加入 Streptavidin HRP（酶标二抗），100 μL/孔，用封板膜封板，然后置于 25°C避光静置温育 30 分钟。

8.9. 洗板：孵育完成后，小心揭去封板膜，弃去孔中液体，用洗液（1×）洗板 3 次（250 μL/孔），拍干样品孔中的残留液体。（注意：如采用手洗板，加洗液（1×）时需要悬空加液，枪头最好不要碰到孔内壁；每次加入洗液（1×）后静置 30 秒并轻微震荡；拍干时注意每次换新的吸水纸或在纸上干净的区域拍干。）

8.10. 显色：将预先配置好的显色液按 100 μL/孔加入酶标板中，用封板膜封板，25°C避光静置温育 15 分钟。

8.11. 终止：加入 Stop Solution（终止液），100 μL/孔，显色均匀后即可读数。（注意：建议在酶标仪读数程序中设置 5-10 秒的震荡）。

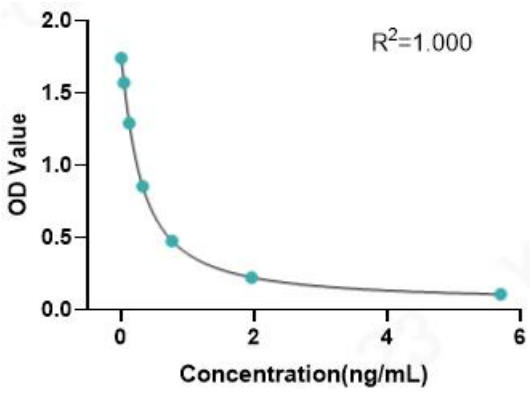
8.12. 读数：在 20 分钟内，用酶标仪于 450 nm 检测波长、630nm 参比波长下读取吸光度。

9. 结果分析

9.1. 以标准品的吸光度为纵坐标，浓度为横坐标，采用四参数拟合方式对标准曲线进行拟合。

9.2. 示意图

标准品浓度 ng/mL	OD 值 1	OD 值 2	检测值	回收率%
0	1.75260	1.72940	0.00644	/
0.0512	1.56900	1.57310	0.04792	94
0.128	1.29200	1.28950	0.12824	100
0.32	0.86630	0.84130	0.32985	103
0.8	0.48460	0.46650	0.77036	96
2	0.22840	0.21780	1.96496	98
5	0.11530	0.10000	5.70678	114



9.3. 结果计算

9.3.1. 供试品最终卡那霉素残留（ng/mL）计算公式

供试品最终卡那霉素残留（ng/mL） = 稀释倍数 × 四参数拟合供试品卡那霉素结果

9.3.2. 加标回收率的计算

$$回收率\% = \frac{（加标检测浓度\times 总体积）-（供试品检测浓度\times 供试品体积）}{加标理论浓度 \times 加标体积} \times 100\%$$

10. 注意事项

10.1. 该试剂盒的最佳反应温度为 25℃，温度过高或者过低将导致检测吸光值和灵敏度发生变化。

10.2. 试剂盒内所有组分都必须恢复至室温（18-25℃）后方可使用。

10.3. 所有组分使用前充分混匀，标准品还需短暂离心 5 秒，将管壁及盖子上的液体全部集中于管底；使用后立即将所有试剂放回 2-8℃。

10.4. 试剂盒必须在有效期内使用，每次试验均需制备相应的标准曲线，不建议不同批次的相关试剂混批使用。

10.5. 酶标板加液时注意不要触碰到微孔板底部，防止破坏包被层。不同样本和步骤间及时更换加样槽和吸头，避免交叉污染。

10.6. 板条洗涤后拍干时，注意防止板条脱落，封板膜注意不能重复使用。

10.7. 显色时高浓度可能会产生黑色絮状物，属于正常现象，程度轻微不影响最终读数结果。

10.8. 读数时注意核对检测波长及拟合方程选择是否正确。

10.9. 只有严格遵守说明书的操作方法，全部使用本试剂盒配套的试剂才能保证最佳检测效果。

10.10. 检测结果的不同可由多种因素引起，包括实验人员的操作、移液器的使用方式、洗板技术、反应时间或温度、试剂盒的储存等。

10.11. 本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用该试剂盒所造成的样本消耗负责，请使用者使用前充分考虑到样本的可能使用量，预留充足的样本。

10.12. 本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断。

11. 故障排除

ELISA 检测试剂盒常见问题及解决方法			
序号	**问题描述**	**可能原因**	**相应对策**
1	标准曲线梯度差	吸液或加液不准	检查移液器及吸头
		酶标板洗涤不完全	保证洗板次数及每孔的洗液用量
2	显色很弱或无色	温育时间太短	保证足够的温育时间
		实验温度不正确	使用推荐的温育温度
		试剂体积不够或漏加	检查吸液及加液过程，保证所有试剂按顺序足量添加
		显色液配制错误	显色液 A 与 B 等体积混合避光，显色前 10 分钟配制
3	OD 值读数低	酶标仪设置不正确	在酶标仪上检查波长和滤光片装置
			读数前应提前打开酶标仪进行预热
4	变异系数大	移液失误	进行回顾性审查或进行验证实验，确认各试剂加样量准确、均一
		移液枪精度差	对移液设备进行定期校准和测试
		板孔内有异物或气泡	加样前确认板孔内无异物，加样后确认无气泡
		酶标板底部有污染	检查酶标板底部是否有残留的液体和手印
		温育过程中未封板或封板不完全	用封板膜封板

5	背景值高	酶标板洗涤不完全	按说明书推荐的方法进行洗板
			如果用自动洗板机，请检查所有的加液口和排废液口是否有堵塞
			如果是手洗板，可适当增加洗板次数
		共耗试剂污染：如超纯水	更换无污染试剂重新配制
		共耗仪器污染:如移液器、离心机	移液器专用，并使用无菌带滤芯吸头
		操作环境不洁净，ELISA试验操作区域与细胞培养、破碎区域混用；	试验操作分区；
		试剂错配：如洗液、检测抗体稀释倍数不对	按正确稀释倍数重新配制
6	灵敏度低	试剂盒保存不当	按说明书要求保存相关试剂

12. 参考文献

- 《中华人民共和国药典（2020 版）》
- ICH（国际人用药品注册技术协调会）指南-Q6B

13. 联系方式

- 地址：江苏省苏州市吴中经济技术开发区越溪街道吴中大道 1463 号
- 邮编 Postal code：215104
- 联系电话 Tel：400-900-1882
- 邮箱 E-Mail：info@hillgene.com
- 售后邮箱：technical@hillgene.com
- 网址 Website：https://www.hillgene.com

14. 买方须知

我们的产品仅供研究使用。它们不得用于任何其他目的，包括但不限于用于人体、治疗或诊断或任何商业用途。未经我们同意，不得将我们的产品转让给第三方、转售、为转售而修改或用于制造商业产品或向第三方提供服务。

您在使用本产品时还必须遵守 https://www.hillgene.com 上产品网页中描述的任何适用许可要求。您有责任查看、理解并遵守此类声明中规定的任何限制。

更多产品、知识产权和限制使用信息，请访问 https://www.hillgene.com。

附件 1：安全注意事项

- 一般说明

用户未按本说明书说明方式使用本产品可能会导致人身伤害或仪器或设备损坏。确保使用本产品的人员已接受实验室一般安全操作说明和本文档中提供的安全信息。

（1）在使用仪器或设备之前，请阅读并理解仪器或设备制造商提供的用户文档中的安全信息。

（2）在处理化学品之前，请阅读并理解所有适用的安全数据表 （SDS），并使用适当的个人防护设备（手套、防护服、护目镜等）。

- 生物危险

（1）生物样品，如人和其他动物的组织、体液、传染性病原体和血液，有传播传染病的可能。在配备适当安全设备（如生物安全柜）的设施中进行所有工作。安全设备还包括个人防护用品，如手套、外套、工作服、鞋套、靴子、呼吸器、面罩、安全眼镜或护目镜。

（2）在使用可能具有生物危害性的材料之前，个人应根据当地的法规和公司/机构要求接受培训。

- 危险废物（来自仪器）

仪器产生的废物具有潜在危险性。请遵守前述 “生物危险”警告中的指导原则。

附件 2：相关产品（更多产品可咨询谱新生物 https://www.hillgene.com）

类别	产品名称	产品货号
质粒检测	E.coli 残留 DNA 检测试剂盒（qPCR-荧光探针法）	HG-ED001
	E.coli 残留 DNA 片段分析检测试剂盒（qPCR-荧光探针法）	HG-EF001
	E.coli 残留总 RNA 样本前处理试剂盒	HG-CL300
	E.coli 残留总 RNA 检测试剂盒 （RT-PCR 荧光探针法）	HG-ER001
	E.coli HCP ELISA 检测试剂盒	HG-HCP002-2G