

Protein A 检测试剂盒

货号	规格
BF03098-96T	1mg

产品名称: Protein A 检测试剂盒

储存: 2-8°C 有效期: 6 个月

只供科研和生产用, 不应用于治疗或诊断, 使用前请认真完整地阅读此说明书!

一、适用范围

此蛋白 A 检测 ELISA 试剂盒用来定量检测重组耐碱性等非天然的蛋白 A, 只能用于科研和生产, 不能应用于人或动物疾病的诊断治疗。本试剂盒提供一个样品的酸化处理方法, 把蛋白 A 从 IgG 产品中分离出来, 在人源单抗浓度高达 2mg/mL 的情况下, 蛋白 A 的检测限低至 78pg/mL 以下。

二、检测原理

此试剂盒采用标记生物素系统的双抗夹心的技术方法。酶标板预包被蛋白 A 的特异性单克隆抗体, 含有蛋白 A 的样品使用样品稀释液进行稀释, 然后酸化液混合使蛋白 A 从抗体产品中的分离出来, 样品和预包被在酶标板上的蛋白 A 捕获抗体反应。再加入生物素标记的检测抗体反应形成夹心三明治复合物。然后洗涤去除没有参与反应的物质, 加入亲和素标记的 HRP, 短暂孵育后, 进行 TMB 显色, 然后加入终止液终止显色反应, 在 450nm 处检测吸光值, OD 值和样品含量成正比关系。

三、需要用到但试剂盒没有提供的东西

1. 10-1000 μ L 的移液器, 单道和多道
2. 100mL 和 1000mL 的烧杯
3. 去离子水
4. 各种型号离心管
5. 酶标仪 (测 450nm)
6. 数据处理分析软件

四、试剂盒组成成分:

Component	Product #	Storage
1. Protein A Standard (proteinA 蛋白标准品) Recombinant Alkali-tolerant Protein A in a protein matrix with preservative, 50 μ g/mL, 1x0.1mL	Bk031	2-8° C
2. Biotinylated Antibody (生物素标记的抗体) Biotinylated anti-protein A monoclonal antibody in a protein matrix with preservative, 1x13mL	Bk016	2-8°C
3. Sample Diluent (样品稀释液) Tris buffered saline with a protein matrix and preservative, 1x30mL	Bk017	2-8°C

4. Denaturing Buffer (酸化缓冲液) Citrate buffer with detergent and preservative, 1x20mL	Bk018	2-8°C
5. 10x Assay Buffer (10x) 洗涤缓冲液 phosphate buffer with preservative, 1x30mL	Bk004	2-8°C
6. Streptavidin labeled HRP 亲和素标记的 HRP Streptavidin labeled HRP in a protein matrix with preservative, 1x13mL	Bk019	2-8°C
7. TMB Substrate (TMB 显色液) 3,3',5,5' Tetramethylbenzidine, 1x13mL	Bk007	2-8°C
8. Stop Solution (终止液) 2M sulphuric acid, 1x13mL	Bk008	2-8°C
9. Monoclonal anti-Protein A Coated plate of 96 wells (包被 proteinA 抗体的 96 孔酶标板) 12x8 well strips in a bag with desiccant	Bk032	2-8°C

五、试剂准备

1. 本试剂盒使用前请放置室温 (20-25 度)
2. 洗涤液配制: 30mL 洗涤液 (10x) 中加入 270mL 去离子水, 混匀配成 300mL 工作洗涤液。如果里面有结晶, 请溶解混匀再使用
3. 其他试剂不用稀释直接进行使用

六、样品处理过程:

1. 样品如果需要稀释, 采用试剂盒内的样品稀释液进行稀释, 可以在 96 孔板或 EP 管中进行。
2. 确保每个含有样品的孔 (管) 的体积都是 100 μ L。
3. 另外加入 100 μ L 的标准品和质控品到孔里。
4. 每个孔再加入 50 μ L 酸化液, 吹打混匀, 室温孵育 10min (使样品中 proteinA 和抗体酸化分离)。

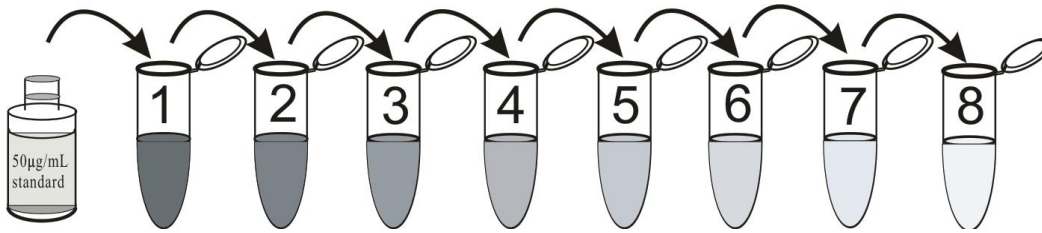
七、注意事项:

1. 本试剂盒只可用于科研生产, 不可用于体外诊断。
2. 终止液是 2M 的硫酸, 避免接触到眼睛、皮肤和衣物。除此之外, 本试剂盒中的试剂不会对人体有任何伤害。
3. 高或低的 pH 值, 洗涤剂, 尿素, 高盐浓度和有机试剂都是 ELISA 方法的影响因素, pH 的影响很大, 样品 PH 值应控制在 7.0-7.4。
4. 如果您在使用过程中有任何问题, 请联系本公司技术部门。

八、试剂盒操作步骤:

1. 标准品稀释:

8 个离心管标记 1#-8#, 取 990 μ L 样品稀释液加入到 1#和 2#管中, 取 500 μ L 样品稀释液加入到 3#-8#管中。再取 10 μ L 样品标准品加入到 1#管中, 涡旋混匀后取 10 μ L 再加入到 2#管中涡旋混匀。然后取 2#管 500 μ L 液体加入到 3#管中涡旋混匀, 再取 3#管 500 μ L 液体至 4#管中涡旋混匀, 如此直至 8#管。



稀释完全之后，2#-8#离心管中 protein A 标准品的浓度分别为 5、2.5、1.25、0.625、0.3125、0.156、0.078ng/mL。另外标记一管为 0ng/mL，加入样品稀释液。

标准品和样品准备好之后就进入样品处理程序。

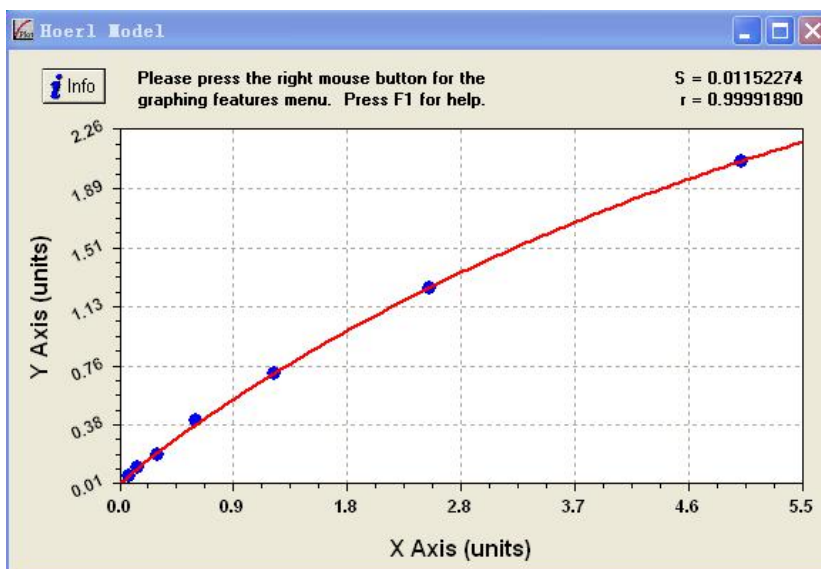
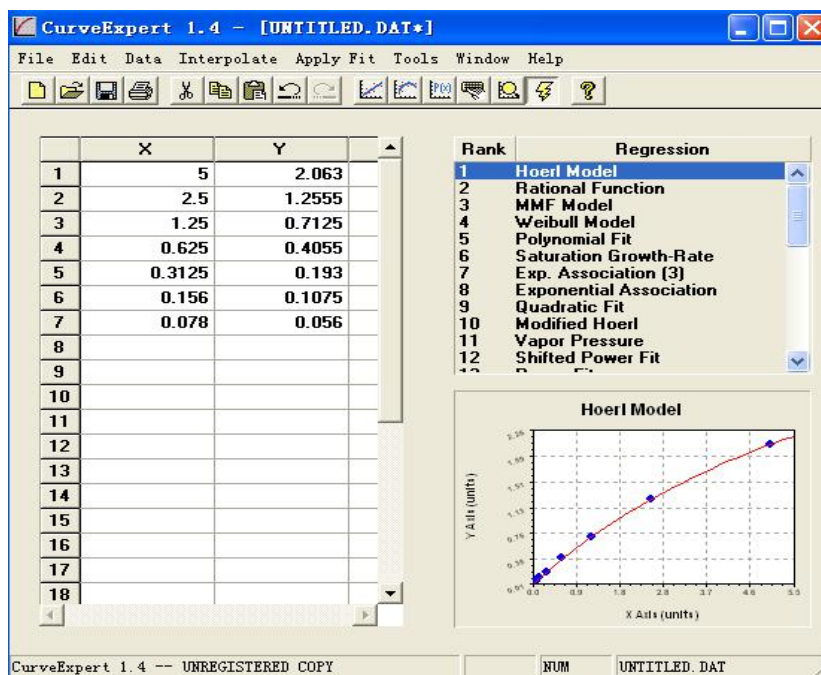
2. 在包被有 protein A 抗体的酶标板中加入 100 μ L/孔的生物素标记的结合抗体。
3. 再加入 25 μ L 酸化处理好的标准品、样品、质控品和空白到合适的孔里，室温孵育 1h。
4. 甩干，洗涤 4 次之后，加入 100 μ L/孔的亲合素标记 HRP，室温孵育 10min。
5. 甩干，洗涤 4 次之后，加入 100 μ L/孔的 TMB 显色液，显色 10min，加入 100 μ L/孔终止液，然后在 450nm 处检测吸光值。

九、数据处理和结果分析：

利用软件（如 Curve Expert 或 ELISA Calc）通过标准品浓度梯度来建立检测标准曲线，把 OD 值和标准品浓度的对应关系用 4 参数逻辑拟合或三次多项式线性拟合成标准曲线，然后把检测样品的 OD 值带入相应曲线方程计算出对应的样品浓度。

典型的标准品检测数据和曲线拟合：

标准品浓度 (ng/mL)	平行孔 OD		平均值	除零 OD 值
5	2.085	2.096	2.0905	2.063
2.5	1.294	1.272	1.283	1.2555
1.25	0.737	0.743	0.74	0.7125
0.625	0.43	0.436	0.433	0.4055
0.3125	0.227	0.214	0.2205	0.193
0.156	0.142	0.128	0.135	0.1075
0.078	0.088	0.079	0.0835	0.056
0	0.027	0.028	0.0275	-



十、分析方法指标:

- 1、精密性: 在样品浓度大于 0.3ng/mL 的时候, 检测变异系数小于 10%; 样品浓度小于 0.3ng/mL 的时候, 检测变异系数略大于 10%。
- 2、建议检测具体样品的时候, 采用添加质控品的方法来考察样品基质效应对检测结果的影响。
- 3、本试剂盒的灵敏度为 0.05ng/mL。
- 4、勾状效应: 本试剂盒是双抗夹心一步法, 产生勾状效应的浓度为 10 μg/mL。