

Maxcripton® 核酸内切酶含量检测试剂盒 (ELISA) ,96T/Kit



源培·培源
BasalMedia

| 货号 | 品名 | 规格 | 有效期 | 外观 | 储存条件 | 运输条件 |
|--------|---|------|-------|-----|----------|------|
| M3111A | Maxcripton® 核酸内切酶含量检测试剂盒 (ELISA) ,96T/Kit | 1Kit | 12 个月 | 试剂盒 | 2 ~ 8 °C | 蓝冰 |

1. 产品描述

通过体外大规模培养哺乳动物细胞扩增获得的病毒，可用于疫苗、细胞治疗用载体等生物制品的生产，在生产工艺中可能会带入用于去除宿主细胞的 DNA 和 RNA 的核酸内切酶，终产物中核酸内切酶的残留可能会使疫苗疗效降低，并导致不良的机体免疫反应。因此，在产品纯化工艺中，应最大限度地去除核酸内切酶，基于此目的，需建立一套稳定而可靠的残留检测方法，用以检测核酸内切酶在产品中含量。

本试剂盒是基于抗原抗体特异性结合的原理，而开发的用于核酸内切酶含量检测的酶联免疫检测试剂盒，可用于纯化工艺研究、常规过程控制、质量控制和最终产品合格放行检测。

本试剂盒可用于检测样品中存在的核酸内切酶，针对本公司生产的 Maxcripton® 重组核酸内切酶 (M221) 含量的检测，特异性更高，也可用于其他商业化核酸内切酶残留检测的研究。

2. 检测原理

采用双位点酶联免疫检测法，在包被有抗核酸内切酶的抗体的 96 孔酶标板中，加入含有核酸内切酶的样品，充分反应后清洗，再加入另一种用辣根过氧化物酶 (HRP) 偶联的抗核酸内切酶的抗体反应，形成一个“I 抗体-抗原-II 抗体-HRP”的夹心体，之后加入显色底物四甲基联苯胺 (TMB)，TMB 与 HRP 发生显色反应，在酶标仪上读取对应的数据，在一定浓度的抗原范围内，酶标仪吸光度读数与核酸内切酶的含量成正比。

3. 试剂盒组分

| 组分货号 | 组分 | 规格 |
|--------|---|---------|
| R456EC | 已包被重组核酸酶抗体的 96 孔酶标板 | 块 |
| R455L8 | HRP 标记的重组核酸酶检测抗体 | 12mL |
| R461J0 | 系列浓度重组核酸酶标准品， 0、0.05、0.1、0.2、0.4、1.6、 6.4、12.8ng/ml | 1mL/管 |
| R454K2 | 清洗缓冲液 (1X) 已稀释至工作浓度 | 125mL*3 |
| R452L8 | TMB 显色液 | 12mL |
| R453L8 | 酶联反应终止液 | 12mL |

4. 使用前客户需要准备的材料和设备

- 具有 450nm、630nm 双波长读取能力的酶标仪；
- 相应量程的单通道或多通道移液器；

3. 37°的孵育设备；

4. 吸水用滤纸

5. 操作注意事项

- 警告：R453L8, 酶联反应终止液含 0.5M 硫酸，具有强腐蚀性，请严格按照有关法规，谨慎操作，避免接触眼睛、皮肤和衣物。出于安全原因，请实验人员务必穿戴好个人防护装备，如实验服，手套，口罩，护目镜等。如不慎沾到皮肤，可用大量流动清水冲洗，持续冲洗 30 分钟，再用肥皂水浸泡 10 分钟，并及时就医。**
- 清洗平板过程中，完全去除未反应试剂对于检测结果准确性至关重要，建议不要使用自动或手动的真空抽吸装置来清洗平板，因为这可能导致测定的不准确。
- 在实际操作过程中，如果样品浓度过高，可以加入抗原含量为 0 的重组核酸酶标准品进行稀释，以保证检测浓度在检测上限之内。
- 在确认使用本试剂盒作为核酸内切酶检测标准之前，每个实验室都应先确定该试剂盒的特异性、准确性、线性范围和灵敏度。
- 本试剂盒中使用的标准品为已知浓度的核酸内切酶。
- 检测样品中的某些成分可能会干扰本检测试剂盒的准确性，较高或较低的 pH 值、洗涤剂、尿素、高盐溶液和有机溶剂是可能的干扰因素。
- 避免分析含有叠氮钠 (NaN₃) 的样品，该物质会破坏 HRP 活性，从而导致核酸内切酶测定结果偏低。
- 每次检测均需要制备相应的标准曲线，不同时间制作的标准曲线不能套用。
- 请在反应终止后 30 分钟内完成读数。

6. 操作步骤

- 取出酶标板 (R456EC)，加入相应浓度的标准品 (R461J0) 和待检样品，每孔加入 100uL，请尽量在 15 分钟内完成操作，37°C 孵育 1~2 小时或 4°C 过夜 (每种浓度标准品和样品需做复孔，以尽可能降低人员操作误差)；
- 弃去酶标板孔内液体，每孔加入 300μL 清洗缓冲液 (1X) (R454K2)，于 37°C 振荡清洗 3min，清洗后弃去上清，并在滤纸上倒扣，吸干孔内残留液体，此步骤需重复 3 次；
- 向已洗净的酶标板中加入 HRP 标记的检测抗体 (R455L8) 每孔加入 100uL，37°C 孵育 1~2 小时或 4°C 过夜；
- 弃去酶标板孔内液体，每孔加入 300μL 清洗缓冲液 (1X) (R454K2)，于 37°C 振荡清洗 3min，清洗后弃去上清，并在滤纸上倒扣，吸干孔内残留液体，此步骤需重复 5 次；
- 加入 TMB 显色液 (R452L8)，每孔加入 100uL，于 37°C 暗处反应 10~30 分钟；

6. 加入酶联反应终止液 (R453L8) , 每孔加入 100uL , 于 450nm 和 630nm 波长下读数。

7. 标准曲线的制作和待测样品中核酸内切酶含量计算

1. 分析酶标仪上的 450nm 和 630nm 波长的读数 ;
2. 在制作标准曲线和检测时, 每种浓度的标准品和样品都应做复孔, 两孔读数的平均值为该浓度下平均吸光率 ;

3. 每种浓度核酸内切酶标准品在 450nm 波长的平均吸光率减去 630nm 波长的平均吸光率为该浓度的最终吸光率 ;
4. 根据每种浓度核酸内切酶标准品的最终吸光率, 制作以核酸内切酶含量为横坐标, 吸光率为纵坐标的标准曲线 ;
5. 根据实验样品的最终吸光率, 计算出该样品中核酸内切酶的含量。

8. 试剂盒灵敏度

1. 本试剂盒定义的最低检测下限为 0.05ng/mL。
2. 本试剂盒定义的定量检测下限为 0.1ng/mL, 定量检测上限为 12.8ng/mL。

9. 企业质量体系

上海源培生物科技股份有限公司的产品是在 cGMP 标准车间中生产的。

上海源培生物科技股份有限公司已取得 ISO9001:2015、ISO13485:2016 质量体系认证。

10. 相关产品

| 货号 | 品名 | 规格 | 存储条件 | 运输条件 |
|--------|-----------------------------|--------|-----------|------|
| M221J0 | Maxcription® 重组核酸酶, 50 U/uL | 1 mL | -30~-5 °C | 干冰 |
| M221J7 | Maxcription® 重组核酸酶, 50 U/uL | 10 mL | -30~-5 °C | 干冰 |
| M221JV | Maxcription® 重组核酸酶, 50 U/uL | 100 mL | -30~-5 °C | 干冰 |
| B210KJ | 磷酸盐缓冲液 (D-PBS) | 500 mL | 2 ~ 30 °C | 常温 |
| B310KJ | 磷酸盐缓冲液 (PBS), pH7.2 | 500 mL | 2 ~ 30 °C | 常温 |
| B320KJ | 磷酸盐缓冲液 (PBS), pH7.4 | 500 mL | 2 ~ 30 °C | 常温 |

本说明书仅为方便使用人员操作而编写, 无任何商业用途