

Cas9 (CRISPR Associated Protein 9) ELISA Kit

产品信息

产品名称	产品货号	规格
Cas9 (CRISPR Associated Protein 9) ELISA Kit	CAS-MM00B	96 T

产品性质

组分编号	组分名称	规格	组分描述	储存
CAS-MM00B-1	预制酶标板	96 孔/板	包被抗 Cas9 单克隆抗体	2-8°C
CAS-MM00B-2	200×Cas9 Nuclease 标准品	3 瓶 (3.2µg/ml)	Cas9 标准品冻干粉, 用 500µl ddH ₂ O 复溶后, 浓度为 3.2 µg/ml。	
CAS-MM00B-3	20×检测抗体	750 µl/管	用于和样本中 Cas9 结合	
CAS-MM00B-4	HRP 标记物	15 ml/瓶	与检测抗体结合, 并催化显色。	
CAS-MM00B-5	10×分析缓冲液	10 ml/瓶	用于稀释标准品和检测抗体	
CAS-MM00B-6	20×浓缩洗液	30 ml/瓶	20×浓缩洗液, 含有 PBS、Tween-20 等。	
CAS-MM00B-7	显色液	15 ml/瓶	用于显色	
CAS-MM00B-8	终止液	10 ml/瓶	0.5 M H ₂ SO ₄	

需自行准备的其他仪器：酶标仪（全波长或带有 450 nm 滤光片）、洗板机、微孔板恒温振荡器、移液器及吸头。

性能指标

- (1) 检测范围：0.25 ng/ml-16 ng/ml
- (2) 灵敏度：0.125 ng/ml
- (3) 精密度：CV<10%

存储条件及有效期

收到本试剂盒之后, 请将其储存于 2-8°C, 未开封试剂盒以生产日期起有效期为 12 个月。复溶后的 Cas9 标准品在-80°C

稳定储存 3 个月, 避免反复冻融。其他组分拆封后, 可于 2-8°C稳定储存 3 个月。建议试剂盒拆封后 3 个月内使用。

检测原理

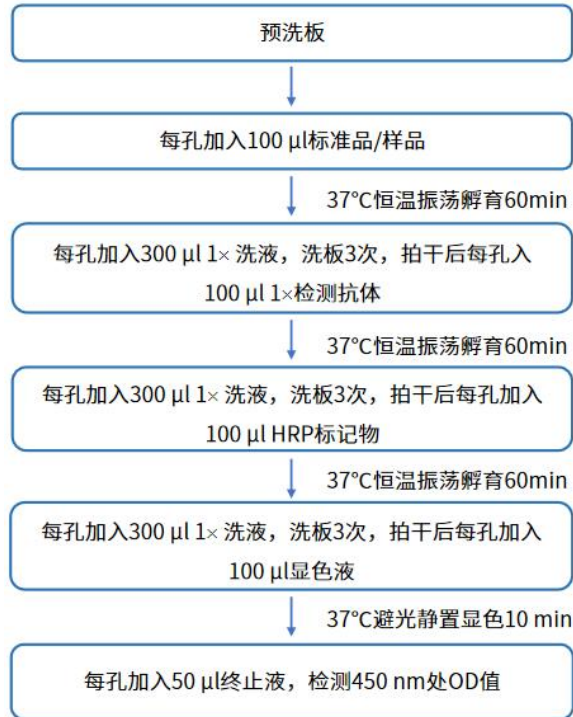
本试剂盒采用双抗体夹心酶联免疫吸附法测定样本中 Cas9 核酸酶含量，将 Cas9 单克隆抗体预包被于 96 孔反应板中，并进行包装处理，保证其活性。加入校准品或待测样本后，标准品或样本中的 Cas9 核酸酶会特异性结合到反应板上，再加入检测抗体和 HRP 标记物，形成抗体-抗原-[检测抗体]-[HRP 标记物]复合物，通过洗涤操作，将多余的检测抗体及 HRP 标记物除去。加入显色液后，HRP 催化其显色，显色强度与样品中的 Cas9 核酸酶的浓度成正比。用终止液终止反应后，在酶标仪上读取 450 nm 波长处的吸收值，即可计算出 样品中的 Cas9 核酸酶的浓度。

操作流程

- (1) 实验将试剂盒从 2-8°C 保存环境中取出，置于室温环境下，平衡至室温。
- (2) 配制 1×洗液：将 20×浓缩洗液用 ddH₂O 稀释至 1×备用。
- (3) 配制 1×分析缓冲液：将 10×分析缓冲液用 ddH₂O 稀释至 1×备用。
- (4) 配制 1×检测抗体：将 20×检测抗体用 1×分析缓冲液稀释至 1×备用。
- (5) 配制标准品：取出标准品，离心使冻干粉集中于瓶底，加入 500 μl ddH₂O，室温溶解 20 min，配制成浓度为 3.2 μg/ml 的 Cas9 标准品。取 3 μl 标准品加入 600 μl 1×分析缓冲液至 16 ng/ml，之后使用 1×分析缓冲液按 2 倍倍比依次稀释成 8 ng/ml、4 ng/ml、2 ng/ml、1 ng/ml、0.5 ng/ml、0.25 ng/ml 共 7 个浓度，使用 1×分析缓冲液作为零点标准品，每个浓度标准品均应设置复孔。
- (6) 预洗：根据需要测试的量，取出 96 孔反应板，用洗板机洗板 1 次，每孔可加入 300 μl 1×洗液，洗涤后拍干，未使用的板条请尽快放入密封袋中并于 2-8°C 保存。
- (7) 加样：分别将标准品和样本加入到 96 孔反应板中，每孔 100 μl，37°C、600 rpm 恒温振荡孵育 60min。
- (8) 加 1×检测抗体：将上一步反应后的 96 孔板使用 1×洗液连续洗板 3 次，每孔加入 300 μl 的 1×洗液，拍干后立即在每孔中加入 100 μl 的 1×检测抗体，37°C、600 rpm 恒温振荡孵育 60 min。
- (9) 加 HRP 标记物：将上一步反应后的 96 孔板使用 1×洗液连续洗板 3 次，每孔加入 300 μl 的 1×洗液，拍干后每孔

加入 100 μl 的 HRP 标记物，37°C、600 rpm 恒温振荡反应 60min。

(10) 显色读数：将上一步反应后的 96 孔板使用 1 \times 洗液连续洗板 3 次，每孔加入 300 μl 的 1 \times 洗液，拍干后每孔加入 100 μl 显色液。于 37°C 避光静置显色 10 min 后，每孔加入 50 μl 终止液，轻轻混匀以终止反应，立即使用酶标仪读取 450 nm 波长的 OD 值。（终止反应到读取 OD 值请在 5 min 内完成）



数据处理

(1) 制作标准曲线

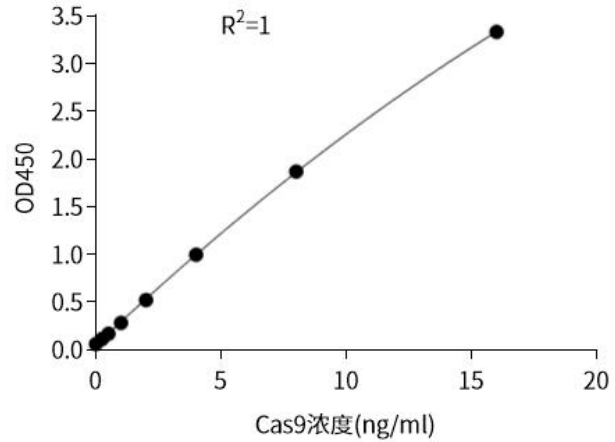
以标准品的浓度为横坐标，OD 值为纵坐标。如有设置复孔，则应取其平均值计算。多种绘图和统计学软件可以用于辅助绘制标准曲线并进行未知样本浓度的计算。一般四参数拟合效果较好，其它拟合方式也可获得较好拟合结果，需根据具体实验数据进行判断。

(2) 计算样品浓度

将样品的 OD 值代入标准曲线的拟合方程式，计算出样品浓度，即为样品的实际浓度。最低定量限（LOQ）为 0.25 ng/ml，低于 0.25 ng/ml 报告为 <0.25 ng/ml。若样品 OD 值高于标准曲线上限，应适当稀释后重测，计算最终浓度时乘以相应稀释倍数。

示例：

Cas9 浓度 (ng/mL)	OD450
16	3.3350
8	1.8700
4	0.9975
2	0.5240
1	0.2850
0.5	0.1720
0.25	0.1165
0	0.0613



注意事项

- (1) 预制酶标板可拆卸，拆卸时切勿碰触孔底，以免指纹、刮痕等影响后续读值。洗板后，切勿放置太久以免干燥，需立即进行下一步操作。
- (2) 20×浓缩洗液在 4°C时会有结晶析出属于正常现象，恢复室温后混匀即可使用。
- (3) 为保证测试准确，请勿与其他商品化试剂盒混用，试剂盒不同批次中的组分也不要混用，每次检测均需做标准曲线，每个标准品应设置复孔。
- (4) 所有试剂使用前必须平衡至室温（18-25°C）。
- (5) 每次洗板之后，须确保反应孔中没有液体残留。
- (6) 使用洗板机洗板可减少实验操作误差，也可手工洗板，手工洗板建议每次添加洗液后浸泡 1 min。
- (7) 显色反应需要避光，并严格控制在 10 min。
- (8) 终止液中含有硫酸，若溅到眼睛或皮肤上，立即使用大量自来水清洗。
- (9) 在使用标准品时，应轻轻混匀，避免涡旋以及剧烈振荡。
- (10) 本产品仅作科学研究使用，不得用于其它用途。