

MaxNuclease ELISA Kit

产品信息

产品名称	产品货号	规格
MaxNuclease ELISA Kit	NUC-SE00B	96 T

产品性质

组分编号	组分名称	规格	组分描述	储存
NUC-SE00B-1	预制酶标板	96 孔/板	已包被抗 MaxNuclease 的单克隆抗体	2-8°C
NUC-SE00B-2	MaxNuclease 标准品 0.6 µg/ml (200×)	500 µl/瓶×3	MaxNuclease 冻干粉，使用前加 500 µl ddH ₂ O 溶解，溶解后浓度为 0.6 µg/ml	
NUC-SE00B-3	酶标抗体(10×)	1.1 ml/管	用于和样本中 MaxNuclease 结合，并催化底物	
NUC-SE00B-4	分析缓冲液(10×)	10 ml/瓶	用于稀释标准品至使用浓度	
NUC-SE00B-5	浓缩洗液(20×)	30 ml/瓶	20× 浓缩洗液，含有 PBS、Tween-20 等，需稀释 20 倍后使用	
NUC-SE00B-6	显色液	15 ml/瓶	用于显色	
NUC-SE00B-7	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：46.88 pg/ml-3000.00 pg/ml
- (2) 灵敏度：23.44 pg/ml
- (3) 精密度：CV<10%

存储条件及有效期

收到本试剂盒之后，请保存于 2-8°C。溶解后的标准品如暂不使用，需-20°C或-80°C保存。本试剂盒的有效期为 12 个月，以生产日期起计算。

检测原理

MaxNuclease 是一种源于粘质沙雷氏菌 (*Serratia marcescens*) 并经基因工程改造的非特异性广谱核酸内切酶，可

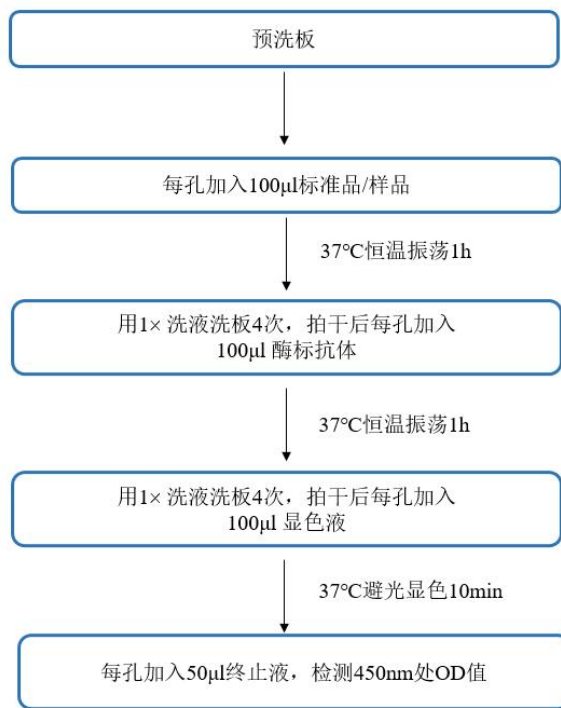
降解双链、单链、环状或线性的 RNA 和 DNA，最终将核酸完全消化成 2-5 个碱基长度的 5'-单磷酸寡核苷酸。该酶可在广泛的条件下高效地降解所有形式的 RNA 和 DNA，因此被广泛用于去除生物制品中的核酸残留和污染。

本试剂盒采用双抗体夹心酶联免疫吸附法测定样本中 MaxNuclease 含量，将 MaxNuclease 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 MaxNuclease 会特异性的结合到反应板上，再加入酶标抗体，形成抗体-抗原-酶标抗体复合物，经过洗涤后加入显色液，显色强度与样品中的 MaxNuclease 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 MaxNuclease 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) 配制洗液：将 20× 浓缩洗液，用 ddH₂O 或纯水稀释 20 倍后备用。
- (3) 配制分析缓冲液：将 10× 分析缓冲液，用 ddH₂O 或纯水稀释 10 倍后备用。
- (4) 配制酶标抗体：将 10× 酶标抗体，用 1× 分析缓冲液稀释 10 倍后备用。
- (5) 配制标准品：取出标准品，1000 rpm 以上离心 30s，使冻干粉集中于管底，小心开盖，加入 500 μl ddH₂O 溶解，制备成 0.6 μg/ml 的 200× 标准品储液。取 3 μl 200× 标准品储液加入 597 μl 1× 分析缓冲液，配制成浓度为 3 ng/ml 的 MaxNuclease 标准品，之后按 2 倍倍比稀释成 1.5 ng/ml、0.75 ng/ml、0.375 ng/ml、0.187 ng/ml、0.093 ng/ml、0.046 ng/ml 共 7 个浓度，使用分析缓冲液作为零点标准品。剩余的 200× 标准品储液请 -20°C 或 -80°C 妥善保存。
- (6) 预洗：根据需要测试的量，取出 96 孔反应板，每孔可加入 300 μl 洗液洗板 1 次，洗涤后拍干，未使用的板条请尽快放入密封袋中并于 4-8°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 恒温振荡反应 1 h。
- (8) 加酶标抗体：将上一步反应后的 96 孔板洗板 4 次，每孔 300 μl，拍干后加入酶标抗体，每孔 100 μl，37°C 恒温振荡反应 1 h。

(9) 显色读数：将上一步反应后的 96 孔板洗板 4 次，每孔 300 μl ，拍干后加入显色液，每孔 100 μl ，37 $^{\circ}\text{C}$ 避光显色 10-15 min，加入终止液每孔 50 μl ，终止反应。立即使用酶标仪读取 450 nm 波长的 OD 值。



数据处理

(1) 制作标准曲线

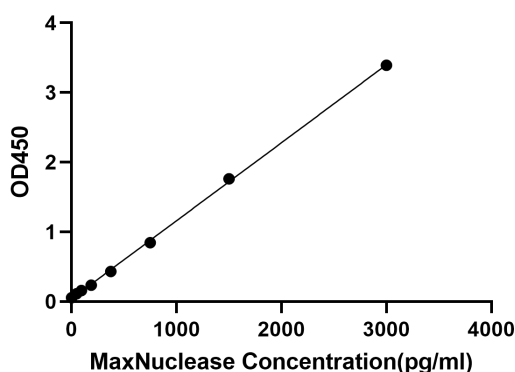
以标准品的浓度为横坐标，OD 值为纵坐标。如有设置复孔，则应取其平均值计算。多种绘图和统计学软件可以用于辅助绘制标准曲线并进行未知样本浓度的计算。优先选择线性拟合，其它方法如四参数拟合亦可获得较好拟合结果，需根据具体实验数据进行判断。

(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 46.88 pg/ml，低于 46.88 pg/ml 报告为 <46.88 pg/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：

浓度(pg/ml)	平均OD值
0.00	0.0542
46.88	0.1123
93.75	0.1594
187.50	0.2353
375.00	0.4314
750.00	0.8466
1500.00	1.7601
3000.00	3.3905



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) 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) 试剂盒中所提室温应在 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 1min。
- (7) 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。
- (8) 为保证结果准确，各步骤加样顺序应一致，减少因加样问题而引起的实验误差，从而使每个孔反应时间和显色时间一致。
- (9) 本产品仅作科学研究使用，不得用于其它用途。