

# Universal Nuclease ELISA Kit

## 全能核酸酶ELISA检测试剂盒

使用前请仔细阅读说明书

目录号: NE110

保存: 2~8°C避光保存1年



## 目录

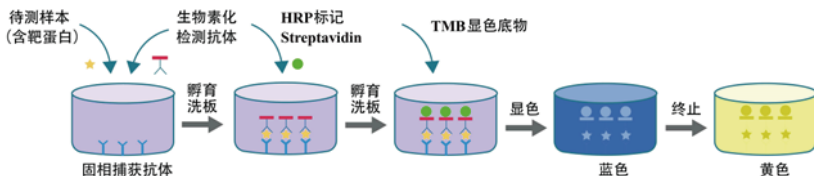
|                    |   |
|--------------------|---|
| 1. 产品说明.....       | 1 |
| 2. 试剂盒组成.....      | 2 |
| 3. 自备材料设备.....     | 2 |
| 4. 工作液配制.....      | 2 |
| 5. 待测样本制备.....     | 3 |
| 6. 操作步骤.....       | 3 |
| 7. 酶标板孔加样示意图 ..... | 4 |
| 8. 结果分析.....       | 4 |
| 9. 参考数据 .....      | 5 |
| 10. 精密度 .....      | 5 |
| 11. 灵敏度 .....      | 5 |
| 12. 注意事项 .....     | 5 |



## 产品说明

Universal Nuclease (全能核酸酶) 是一种来源于粘质沙雷氏菌 (*Serratia marcescens*), 经基因工程改造并在大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 中表达纯化的非特异性广谱核酸内切酶, 又称为非限制性核酸内切酶或广谱核酸酶。该酶能够不加选择的在链内任意核苷酸之间进行切割, 将核酸降解成 2~5 个碱基的 5' 单磷酸寡核苷酸, 因此全能核酸酶可高效降解各种形式 (双链、单链、环状或线性的) 的 DNA 和 RNA 而不会导致蛋白的水解, 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 ELISA 法定量测定生物制品中 Universal Nuclease 的残留量。本试剂盒采用高亲和力的 Universal Nuclease 抗体预包被酶标板, 将标准品 / 待测样本和生物素标记的抗 Universal Nuclease 检测抗体同步加入微板孔中, 经过孵育后样本中存在的 Universal Nuclease 会与酶标板上的预包被抗体及检测抗体特异性结合。洗涤去除未结合物后, 将辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素 (Streptavidin-HRP) 加至微板孔中并孵育, 通过检测抗体上的生物素和链霉亲和素发生的高强度非共价结合, 形成 “包被抗体 - Universal Nuclease 蛋白 - 检测抗体 - Streptavidin-HRP” 免疫复合物。再次洗涤后, 将显色底物 TMB 加至微板孔中, HRP 会催化 TMB 底物生成蓝色产物, 颜色反应的深浅将与样本中 Universal Nuclease 的浓度成正相关。而后加入终止液终止反应, 在 450 nm 波长 (参考波长 570 - 630 nm) 处测定吸光度值。通过绘制标准曲线, 由样本吸光度值可计算出样本中所含 Universal Nuclease 浓度。本试剂盒特异性强、检测灵敏度高, 同时操作更加便捷。



双抗体夹心 ELISA 原理示意图



## 试剂盒组成

| Component                        | NE110-01  | Storage      |
|----------------------------------|-----------|--------------|
| Universal Nuclease抗体预包被酶标板       | 96 T      | 2~8°C        |
| Universal Nuclease标准品(100 ng/ml) | 120 µl/ 支 | 2~8°C        |
| 100×Universal Nuclease检测抗体       | 60 µl/ 支  | 2~8°C        |
| 标准品&样本&抗体稀释液                     | 25 ml/ 瓶  | 2~8°C        |
| 100×Streptavidin-HRP             | 120 µl/ 支 | 2~8°C ( 避光 ) |
| Streptavidin-HRP稀释液              | 15 ml/ 瓶  | 2~8°C        |
| 20×洗液                            | 50 ml/ 瓶  | 2~8°C        |
| TMB显色底物                          | 12 ml/ 瓶  | 2~8°C ( 避光 ) |
| 终止液                              | 6 ml/ 瓶   | 2~8°C        |
| 封板膜                              | 4 张       |              |

**注意：**试剂盒在开封的条件下，2~8°C可储存 1 个月；未开封试剂盒请在有效期 1 年内使用。

## 自备材料设备

1. 酶标仪：主波长 450 nm，参考波长 620 nm；
2. 去离子水；
3. 实验过程中用到的 EP 管、移液器、吸头、量筒等；
4. 微孔板震荡器；
5. 自动洗板机或 8 道手动洗瓶或多道移液器。

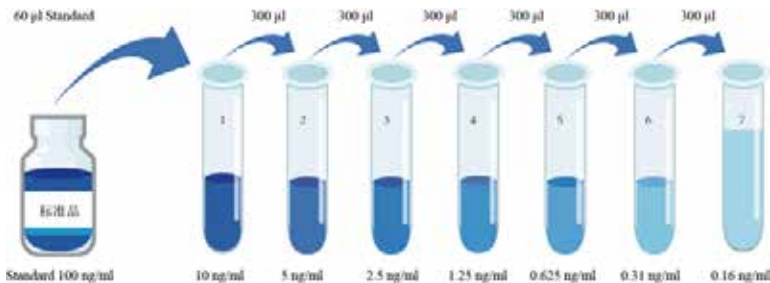
## 工作液配制

配制前请将所有试剂恢复至室温。

- 1) **1×Universal Nuclease检测抗体：**使用前点甩离心，使管壁上的液体集中在管底。按当次实验所需用量，用标准品&样本&抗体稀释液将100×Universal Nuclease检测抗体稀释至1×工作浓度。配制完成后需在15分钟内使用。
- 2) **1×Streptavidin-HRP：**使用前点甩离心，使管壁上的液体集中在管底。按当次实验所需用量，用Streptavidin-HRP稀释液将100×Streptavidin-HRP稀释至1×工作浓度。配制完成后需在15分钟内使用。
- 3) **1×洗液：**按当次实验所需用量，用去离子水将20×洗液稀释至1×工作浓度。配制完成后可在2~8°C保存30天。
- 4) **标准品梯度稀释：**用标准品&样本&抗体稀释液将标准品稀释10倍，即取标准品60 µl，加入到540 µl标准品&样本&抗体稀释液中，充分混匀，记为1号管，此时1号管的浓度为10 ng/ml；然后按照



下图进行2倍梯度稀释，在2-7号管中分别加入300  $\mu$ l标准品&样本&抗体稀释液；取300  $\mu$ l 1号管液体加入至2号管，此时2号管的浓度为5 ng/ml，混匀后取300  $\mu$ l加入至3号管，此时3号管的浓度为2.5 ng/ml，以此类推梯度稀释至7号管（0.16 ng/ml）。10 ng/ml作为标准曲线的最高点，标准品&样本&抗体稀释液作为标准曲线的零点（0 ng/ml），即空白值。



### 待测样本制备

将样本按照一定的稀释倍数进行稀释。样本具体的稀释倍数，需要通过样本加标，评估加标回收率和稀释线性后，确定合适的稀释倍数。

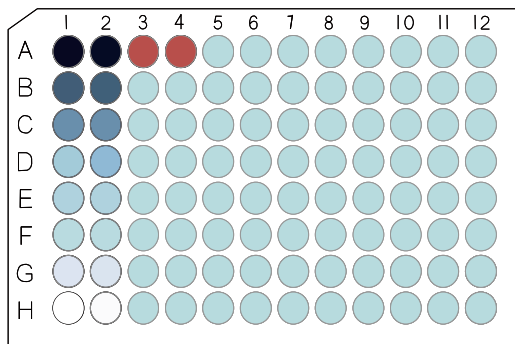
注：样品 pH 应保证在 6.0-8.0 之间，过低或过高的 pH 可能会造成测量值异常。

### 操作步骤

1. 检测前请将所有试剂恢复至室温。取出当次实验所需板条，未用的板条请及时放入铝箔袋中封口，2~8℃保存。
2. 将稀释好的标准品和样本分别加入到对应的板孔中，空白孔加入标准品&样本&抗体稀释液，100  $\mu$ l/孔。标准品和样本建议做复孔检测，且加入试剂的顺序应保持一致，使各复孔测试结果一致。
3. 每孔加入1×检测抗体，50  $\mu$ l/孔，在微孔板震荡器上震荡30秒混匀，盖好封板膜后37度孵育1.5小时。
4. 弃掉孔内液体，用1×洗液洗板，300  $\mu$ l/孔，每次洗板时建议先在微孔板震荡器上震荡30秒后，弃掉孔内洗液。重复操作5次，末次在吸水纸上拍干。
5. 加入1×Streptavidin-HRP，100  $\mu$ l/孔，在微孔板震荡器上震荡30秒混匀，盖好封板膜后37度孵育30分钟。
6. 重复步骤4。
7. 加入TMB显色底物，100  $\mu$ l/孔，在微孔板震荡器上震荡30秒混匀，盖好封板膜后室温孵育20分钟。
8. 孵育完成后加入终止液，50  $\mu$ l/孔，在主波长450 nm，参考波长620 nm的波长下进行读数。
9. 实验完毕后未用完的试剂及酶标板外框放回试剂盒并于2~8℃储存，建议1个月内用完。



## 酶标板加样示意图



注: A1/A2: 100  $\mu$ l 10 ng/ml 标准品

B1/B2: 100  $\mu$ l 5 ng/ml 标准品

C1/C2: 100  $\mu$ l 2.5 ng/ml 标准品

D1/D2: 100  $\mu$ l 1.25 ng/ml 标准品

E1/E2: 100  $\mu$ l 0.625 ng/ml 标准品

F1/F2: 100  $\mu$ l 0.31 ng/ml 标准品

G1/G2: 100  $\mu$ l 0.16 ng/ml 标准品

H1/H2: 100  $\mu$ l 0 ng/ml 标准品 (即标准品 & 样本 & 抗体稀释液)

A3/A4: 100  $\mu$ l 样本

## 结果分析

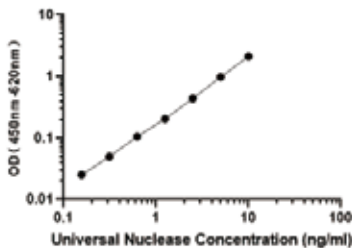
1. 用酶标仪进行双波长检测, 测定主波长 450 nm 和参考波长 620 nm 的 OD 值。OD 值为 450 nm 的 OD 测定值减去 620 nm 的 OD 测定值。
2. 计算标准品复孔的平均 OD 值, 然后减去空白值 (0 ng/ml 标准品的平均 OD 值), 得到标准品的校正值。以标准品的浓度为横坐标, OD 校正值为纵坐标, 用直线回归或四参数法生成标准曲线。
3. 通过样本 OD 值和标准曲线方程计算样本浓度。若样本 OD 值高于标准曲线上限, 应进行适当稀释后重测, 计算浓度时应乘以相应稀释倍数。



### 参考数据

每次检测均需建立标准曲线，以下数据仅作为示例参考。

| 标准品 ng/ml | 平均 OD 值 | 校正值   |
|-----------|---------|-------|
| 10        | 2.145   | 2.118 |
| 5         | 1.002   | 0.975 |
| 2.5       | 0.464   | 0.437 |
| 1.25      | 0.231   | 0.204 |
| 0.625     | 0.132   | 0.105 |
| 0.31      | 0.076   | 0.049 |
| 0.16      | 0.052   | 0.025 |
| 0         | 0.027   | 0     |



### 精密度

#### 板内精密度

用 3 个已知浓度的样本在一块酶标板上测定 20 个重复孔，以此评估板内的精密度。

#### 板间精密度

用 3 个已知浓度的样本在不同酶标板上测定 20 个重复孔，以此评估板间的精密度。

|             | 板内   |      |      | 板间   |      |      |
|-------------|------|------|------|------|------|------|
|             | 1    | 2    | 3    | 1    | 2    | 3    |
| 平均值 (pg/ml) | 7.9  | 2.2  | 0.56 | 6.7  | 1.9  | 0.58 |
| 标准差         | 0.14 | 0.03 | 0.02 | 0.13 | 0.04 | 0.01 |
| 变异系数 ( % )  | 1.8  | 1.5  | 3.2  | 2.0  | 2.4  | 2.4  |

### 灵敏度

Universal Nuclease 的最低可检测浓度为 41.7 pg/ml。灵敏度是根据 20 个重复的零标准品 OD 值的平均值加两倍标准差计算得到的相对应浓度。

### 注意事项:

1. 本试剂盒应 2~8°C 避光保存，开封后 1 个月内用完。
2. 为保证结果准确，每次检测均需做标准曲线。
3. 实验中所用试剂均需充分混匀。
4. 每次洗板完成后，均需在吸水纸上拍干，若板孔内有气泡，可用吸头戳破，注意每个孔只能用一



个吸头，避免交叉污染。

5. TMB 显色底物如有变色请勿使用。

6. TMB 显色后可根据显色的深浅来判断是否需要提前或延后加入终止液。

7. 加完终止液后，请在 30 分钟内完成读数。

8. 推荐使用主波长 450 nm，参考波长 620 nm 的波长下进行读数，若只使用单波长 450 nm 读数，OD 值可能整体偏高，空白值也会相应增高，导致试剂盒的准确度降低。

9. 试剂盒中的终止液具有腐蚀性，操作人员在使用时需戴上手套并注意防护，如果不慎接触，请用大量清水冲洗并及时就医。

10. 为避免交叉污染，加样时请注意每个样品和标准品必须更换枪头。请在实验中使用一次性试管、枪头、封板膜及洁净塑料容器。

11. 不同批号或不同来源的试剂盒组分不可混用。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1.0-202409

服务电话 +86-10-57815020

6 服务邮箱 [complaints@transgen.com](mailto:complaints@transgen.com)

