



Universal Nuclease（全能核酸酶）酶联免疫吸附检测试剂盒

产品编号：NEU0001

本试剂盒仅供科研使用，不得用于临床及诊断使用！

目录

一、 背景介绍.....	2
二、 实验原理.....	2
三、 试剂盒优势.....	2
四、 试剂盒组分.....	2
五、 实验需要但未提供的耗材及设备.....	3
六、 实验前的准备.....	3
七、 试剂的准备.....	4
八、 操作步骤.....	4
九、 注意事项.....	5
十、 数据处理.....	7
十一、 质量控制.....	7
十二、 常见问题及分析.....	8
十三、 联系我们.....	9



一、背景介绍

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（*E.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。它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 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。与此同时，生物制品中可能存在全能核酸酶的微量残留，这将对生物制品产生一定的影响。

二、实验原理

本试剂盒采用了固相夹心法的酶联免疫吸附实验（ELISA）。先将捕获抗体包被微孔板，制成固相抗体。检测时在包被抗体的微孔板中先加入待测抗原孵育，洗涤后加入辣根过氧化物酶（HRP）标记的检测抗体，形成包被抗体-抗原-检测抗体复合物。经洗涤后去除未参与反应的结合物，最后加入底物 TMB 显色。TMB 在 HRP 的氧化作用下转化成蓝色，并在酸的作用下转化成最终的黄色。氧化后的 TMB 颜色和因子的总含量呈正相关。用酶标仪在 450nm 波长下测定吸光度（OD 值），与浓度拟合成标准曲线，通过样本 OD 值，代入标准曲线方程，计算样品中蛋白浓度。

三、试剂盒优势

1. 特异性高：包被抗体与检测抗体均为单抗，分别识别同一抗原的不同特异性表位，增加了反应的特异性。
2. 稳定性高：实验采用优质的包被抗体和抗原，并使用了特定的广谱蛋白稳定剂和微孔板处理工艺，增加微孔板热稳定性和结果的可重复性。

四、试剂盒组分

请将按照试剂标签提示的贮存条件存放试剂，并请在保质期前使用。

	名称	规格	数量	保存
1	已包被平底微孔板	96 孔	1 板（可拆卸）	2-8℃ 密封冷藏
2	标准品母液（1μg/mL）	20μL	1 瓶	-20℃ 冷藏



3	HRP 标记抗体浓缩液 (100×)	150μL	1 瓶	2-8℃ 冷藏
4	TMB	10mL	1 瓶	2-8℃ 避光冷藏
5	终止液	10mL	1 瓶	2-8℃ 冷藏
6	洗液 (100×)	10mL	1 瓶	2-8℃ 冷藏
7	稀释液 (10×)	10mL	1 瓶	2-8℃ 冷藏
8	封板膜		4 张	
9	使用说明书		1 份	

五、实验需要但未提供的耗材及设备

1. 移液器：10μL-1000μL
2. 灭菌的去离子水或超纯水 1L
3. 吸水纸
4. 高速离心机
5. 恒温箱或水浴锅 (可选)
6. PBS (pH 7.4) 配制方法：NaH₂PO₄ 0.2g, Na₂HPO₄ · 12H₂O 2.9g, NaCl 8g, KCl 0.2g, 用蒸馏水稀释至 1000mL。
7. 多道移液器
8. 灭菌 EP 管
9. 酶标仪
10. 洗板机或者洗瓶
11. 数据分析及绘图软件

六、实验前的准备

1. 请仔细阅读试剂盒说明书，反应在室温 (20-25 度，下同) 下进行。
2. 样本的准备：将化冻后的冻存样本，混匀后，12000rpm 离心 1 分钟，取上清作为待检样本备用。
3. 样本的稀释倍数：如果您的样本预测浓度高于本试剂盒最高检测限度，建议使用 PBS 对样本进行稀释。

注意：

- ◆ 若您使用说明书中未列举的样本，请进行预实验看本试剂盒是否适合您的实验。
- ◆ 建议您使用新鲜的或者储存时间不长的样本用于分析测试。否则，样本中蛋白质的降解及变性会导致错误的实验结果。
- ◆ 实验样本的最佳 PH 值在 7.0-7.4 之间。

七、试剂的准备

1. 试剂盒内所有试剂及包被板，请在使用前的 30 分钟拿出，使其恢复室温。
2. 洗液的稀释：将体积为 10mL 的 100×洗液母液，加入 990mL 去离子水或超纯水，混匀备用。如果浓缩液中有少许结晶，请将其置于室温，并轻轻震荡至晶体完全溶解。
3. 稀释液的准备：将 10mL 10×稀释液母液，加入 90mL 去离子水或超纯水，混匀备用。如果浓缩液中有少许结晶，请将其置于室温，并轻轻震荡至晶体完全溶解。

八、实验步骤

1. 撕开包装袋，取出包被有抗体的酶标板，拆下不需要使用的板条，并用封板膜封好，放回铝箔袋，重新放回 4℃ 保存（板架可重复使用）。标准品由于运输颠簸可能会粘在管壁上，使用前轻微甩匀，或在离心机上离心 2 秒左右。

2. 标准品的稀释：

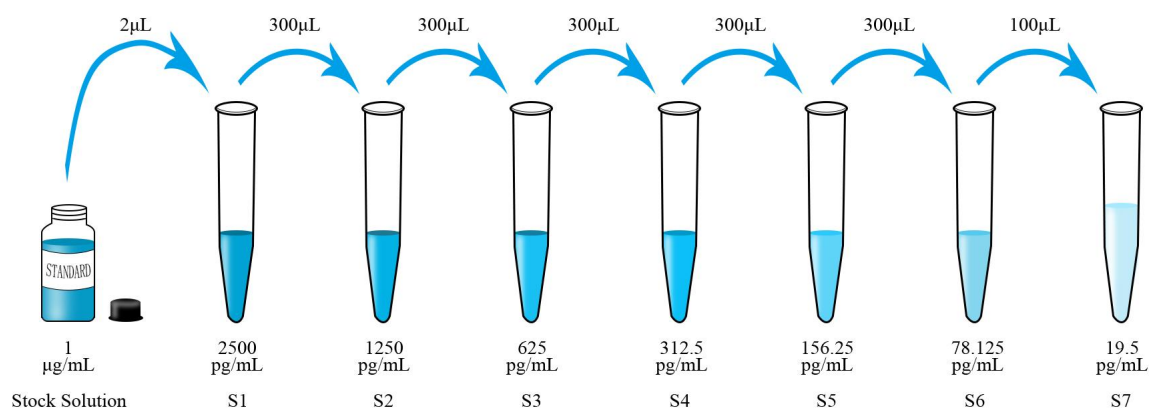
提前标记 7 只样品稀释管，预加入一定体积的稀释液，其中 S1 (798μL)，S2 至 S7（各 300μL）。

(1) 取 2μL 标准品母液（浓度为 1μg/mL）加入到标记为 S1 的管，轻轻吹打 2 次并颠倒混匀（后续操作相同，切勿涡旋等剧烈混匀）。

(2) 取 300μL 浓度为 2500pg/mL 的标准品 S1 到 S2，之后以 2 倍梯度稀释至 S6。

(3) 取 100μL 浓度为 78.125pg/mL 的标准品 S6 到 S7。

注：标准曲线有 7 个点，分别命名为 S1……S7。





3. 加样：取 100 μ L 标准品及待测样本加入微孔板中。

空白对照 (Blank Control) 加入 100 μ L 样本稀释液即可。

4. 将酶标板用封板膜密封后室温振荡孵育1.5小时。

5. 洗板机洗板：

- 取出稀释好的洗液放置于洗板机的洗瓶中备用。
- 取出上步中的微孔，甩去微孔中的液体，洗板机洗板5次。
- 洗板完成后，将微孔板倒扣在吸水纸上拍打，充分拍干至无明显水膜为止。

或手动洗板：

- 取出稀释好的洗液放置于洗瓶中备用。
- 取出上步中的微孔，甩掉微孔中的液体，在吸水纸上轻轻拍打至无明显液滴。
- 用多道移液枪向每个微孔中加300 μ L洗液，静置20秒，倒去洗液，将微孔板倒扣在吸水纸上轻轻拍打，重复5次。

注：第五次洗板时，充分拍干至无明显水膜为止。

6. HRP 标记抗体工作液(1 $\times$)的准备：取检测抗体母液 (100 $\times$) 100 μ L 到 10mL 稀释液中稀释至工作浓度 (1 $\times$)，取 100 μ L 工作液加入到各微孔中，将酶标板用封板膜密封后室温振荡孵育 1.5 小时。

7. 洗板：重复步骤 5。

8. 显色：各微孔板加入 100 μ L TMB 溶液，室温避光反应 15 分钟左右。若颜色浅可适当延长反应时间，勿超过 30 分钟。

9. 终止：各微孔中加入 50 μ L 终止液，终止反应。

10. 读取 OD 值：在波长 450nm 下读取 OD 值。

11. 数据分析：推荐使用四参数回归拟合。

九、注意事项

(一) 样本收集注意事项

1. 样本收集完毕后，要分装保存在-20 $^{\circ}$ C（少于 3 个月）或-80 $^{\circ}$ C（少于 6 个月）以保持蛋白

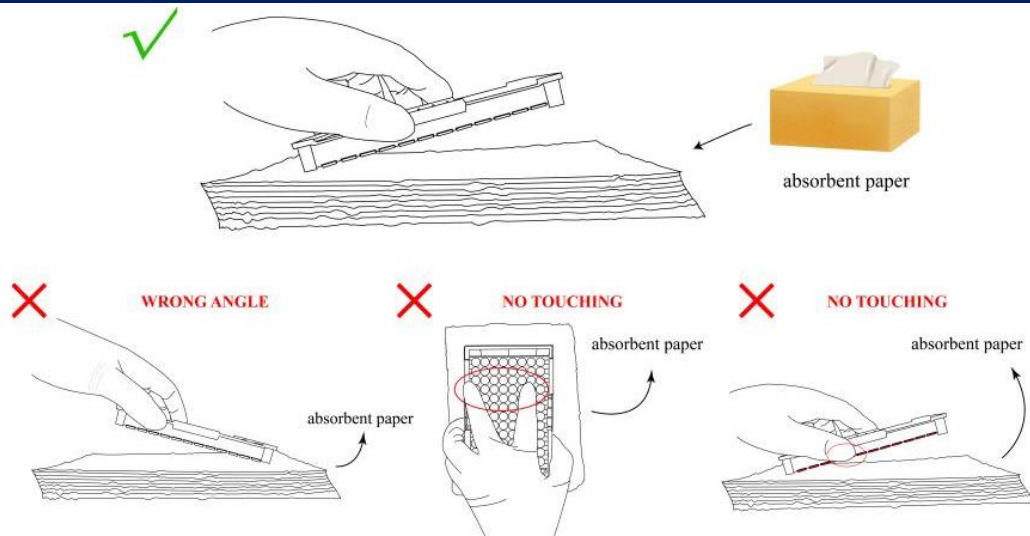


活性，避免污染和反复冻融。如果要在 24 小时内分析样本，可以保存在 2-8℃。

2. 冷冻样本使用前请保证充分化冻（请勿加热融化样本），使用前用移液器或者 Vortex 混匀，样本液中含有沉淀物会对 ELISA 有干扰，可离心去除。
3. 某些化学裂解液（如 SDS, Triton 等）可能会对本实验造成干扰，谨慎使用。
4. 建议所有标准品及样本都设置复孔。向微孔中加入试剂或样本后，请轻轻震荡使液体混匀，并尽量保证不要有气泡。

（二）实验操作注意事项

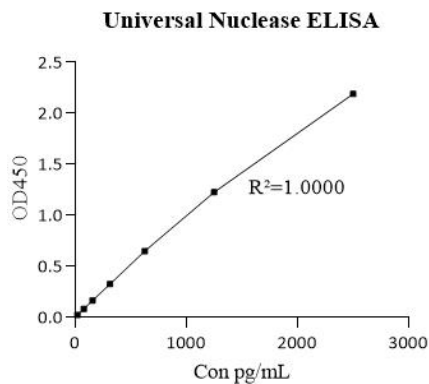
1. 请不要将本试剂盒的试剂与其他试剂盒试剂交叉使用。
2. 实验操作使用一次性吸头，避免交叉污染。
3. 加样：加样时要控制时间和速度，一般加样时间控制在10分钟内。如果样本数量过多，可使用多道移液器。
4. 洗涤：洗涤时微孔中残留的洗涤液应在吸水纸上充分拍干，并要消除板底残留的液体和手指痕迹，避免影响最后的酶标仪读数。
5. 由于底物TMB溶液是光感性的试剂，使用前请勿长时间暴露于可见光下。同时要避免TMB与金属接触。
6. 反应时间的控制：加入底物后请定时观察反应孔的颜色变化（10分钟左右），如果颜色较深，请提前加入终止液终止反应。
7. 本试剂盒中使用了稀硫酸作为终止液，其具有轻微腐蚀性，使用时应避免接触衣物或眼、手等皮肤暴露部位。
8. 标准曲线的 $R^2 \geq 0.95$ 。
9. 拍板示意图：



十、数据处理

1. 对样本及标准品各自对应的复孔 OD 值取平均值。
2. 以标准品的 OD 作为 Y 值，标准品的浓度作为 X 值，推荐选择四参数 logistic (4-PL) 曲线拟合。
3. 将样本 OD 代入到标准曲线方程中计算样本中待检样本的浓度。
4. 以下曲线仅供参考。

附件一、标准曲线实例



编号	Con pg/mL	OD450
S1	2500	2.191
S2	1250	1.229
S3	625	0.652
S4	312.5	0.329
S5	156.25	0.168
S6	78.125	0.087
S7	19.5	0.025

十一、质量控制

1. 灵敏度

最低检测限 (LOD) : 2.4pg/mL 最低定量限 (LOQ) : 19.5pg/mL

2. 精密度

批内差 CV%: 3-6 批间差 CV%: 5



十二、常见问题及分析

若实验结果显示异常，请及时对显色结果进行拍照记录，并完整保存未使用的板条及试剂，同时联系技术支持。此外，亦可参考后续提供的排查信息以确定问题根源。

问题描述	可能原因	相应对策
标准曲线 梯度差	稀释错误	按照相应比例稀释标准曲线
	吸液或加液不准	检查移液器及吸头
	酶标板洗涤不完全	保证洗板次数及每孔的洗液用量
显色很弱或 无色	温育时间太短	保证足够的温育时间
	实验温度不正确	使用推荐的温育温度
	试剂体积不够或漏加	检查吸液及加液过程,保证所有试剂按顺序足量添加
	显色液没有恢复室温	显色前将 TMB 放置室温半小时以上
OD 值读数 低	酶标仪设置不正确	在酶标仪上检查波长和滤光片装置
		读数前应提前打开酶标仪进行预热
变异系数 (CV 值) 大	加液不正确	检查加液情况
	酶标板底部有污染	检查酶标板底部是否有残留的液体和手印
	板孔内有异物或气泡	加样前确认板孔内无异物，加样后确认无气泡
	温育过程中未封板或 封板不完全	用封板膜封板
背景值高	酶标板洗涤不完全	按说明书推荐的方法进行洗板
		如果用自动洗板机,请检查所有的加液口和排废液口是 否有堵塞



		如果是手洗板，可适当增加洗板次数
		洗涤不充分漏洗都会导致高背景
	温育时间、温度不正确	按照说明书严格要求操作
	耗材污染	使用的管子、枪头等耗材不干净
	洗液有污染	配制新鲜洗液
	显色液被污染	显色溶液自身是没有颜色的，确保底物在使用之前没有被金属离子或氧化试剂污染，而且避光保存
灵敏度低	试剂盒保存不当	按说明书要求保存相关试剂

十三、联系我们

公司地址：上海市浦东新区紫萍路889弄6号楼（张江基因岛）

网址：www.cellgenebio.com 或 www.bluegene.cc 或 www.elisakit.cc

联系电话：400-882-6373/021--61106433/021--61106434/021-61106435/021--61106436

国内市场部	
售前一	QQ: 2247355151 或邮箱: sale_bluegene@163.com
售前二	QQ: 3247299548 或邮箱: sale_cellgene@163.com
技术部售后	tech@bluegene.cc
其他咨询	sales@bluegene.cc