

Trpzyme® 重组胰蛋白酶含量检测试剂盒 (ELISA), 96T

货号	品名	规格	有效期	外观	储存条件	运输条件
M3211A	Trpzyme® 重组胰蛋白酶含量检测试剂盒 (ELISA), 96T	Kit	12 个月	试剂盒	2 ~ 8 °C	蓝冰



源培·培源
BasalMedia

1. 产品描述

通过培养贴壁依赖型哺乳动物细胞，例如：Vero，人二倍体细胞为宿主扩增的病毒，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贴壁细胞传代的消化酶，终产物中各类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，应最大限度地去除各类酶，基于此目的，需建立一套稳定而可靠的消化酶残留检测方法，用以检测各类消化酶在产品中的含量。

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重组胰蛋白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重组胰蛋白酶，针对本公司生产的 Trpzyme® 系列细胞消化液酶含量的检测，特异性更高，也可用于与此类似的商品化细胞消化液的残留检测（如 Thermofisher: TrypLE 系列等）。

2. 检测原理

采用双位点酶联免疫检测法，在包被有抗重组胰蛋白酶的抗体的 96 孔酶标板中，加入含有重组胰蛋白酶的样品，充分反应后清洗，再加入另一种用辣根过氧化物酶（HRP）偶联的抗重组胰蛋白酶的抗体进行反应，形成一个“抗体 I-抗原-HRP 标记的抗体 II”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酶的含量正相关。

3. 试剂盒组分

组分货号	组分	规格
R462J5	TMB 显色液 A	8mL
R463J5	TMB 显色液 B	8mL
R464J9	酶联反应终止液	15mL
R454K2	清洗缓冲液（1X）已稀释至工作浓度	125mL*3
R465J9	HRP 标记的重组胰蛋白酶的检测抗体	15mL
R466EC	已包被重组胰蛋白酶抗体的 96 孔酶标板	块
R457K2	样品稀释液	125mL
R467J0	重组胰蛋白酶标准品， 0、0.067、0.2、0.6、1.8、5.4、 16.2、48.6ng/mL	1mL/管

4. 使用该试剂盒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；
- 37°C 的暗箱孵育设备；
- 吸水用滤纸

5. 操作注意事项

- 警告：酶联反应终止液(R464J9)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 30min，再用肥皂水浸泡 10min，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，可以加入样品稀释液（R457K2）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重组胰蛋白酶检测标准之前，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重组胰蛋白酶。
- 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，从而导致重组胰蛋白酶测定结果偏低。
- 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。
- 显色液应在使用前 10min 配制（时间不能放置太久），将显示液 A、显色液 B 等体积混合，避光放置。
- 请在反应终止后 30min 内完成读数。
- 本试剂盒不适用于检测猪、牛来源的胰蛋白酶残留。

6. 操作步骤

- 取出酶标板（R466EC），加入相应浓度的标准品（R467J0）和待检样品，每孔加入 100μL，请尽量在 15min 内完成操作，37°C 孵育 0.5h 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 4 次；
- 向已洗净的酶标板中加入 HRP 标记的检测抗体（R465J9）每孔加入 100μL，37°C 孵育 0.5h 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，轻拍几下，吸干孔内残留液体，此步骤需重复 8 次；

- 加入预先配制好的 TMB 显色液 (R462J5 与 R463J5 等体积混合)，每孔加入 100 μ L，于 37 $^{\circ}$ C 暗箱孵育反应 15min；
- 加入酶联反应终止液 (R464J9)，每孔加入 100 μ L，于 450nm 和 630nm 波长下读数。

7. 标准曲线的制作和待测样品中重组胰蛋白酶含量计算

- 分析酶标仪上的 450nm 和 630nm 波长的读数，630nm 的读数均应 ≤ 0.05 ；
- 0ng/ml 的 OD 平均值应小于标准品最低浓度点的 OD 平均值；
- 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吸光度；
- 每种浓度重组胰蛋白酶标准品在 450nm 波长的吸光度减去 630nm 波长的吸光率为该浓度的最终吸光度；
- 根据每种标准品浓度及其相应的吸光度，制作线性或 4 参数方程拟合曲线，标品回收率应该在 80%~120%之间；

- 根据实验样品的最终吸光度，计算出该样品中重组胰蛋白酶的含量。

标准曲线数据参考

孔位置	标准品浓度 (ng/mL)	Δ OD 值	平均 Δ OD 值
A1	48.6	2.261	2.290
A2	48.6	2.320	
B1	16.2	1.401	1.416
B2	16.2	1.430	
C1	5.4	0.625	0.628
C2	5.4	0.630	
D1	1.8	0.250	0.250
D2	1.8	0.249	
E1	0.6	0.105	0.105
E2	0.6	0.105	
F1	0.2	0.059	0.058
F2	0.2	0.057	
G1	0.067	0.046	0.045
G2	0.067	0.044	
H1	0	0.039	0.040
H2	0	0.040	

8. 试剂盒灵敏度

- 本试剂盒定义的最低检测下限为小于 0.067ng/mL。
- 本试剂盒定义的定量检测下限为 0.067ng/mL，定量检测上限为 48.6ng/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
S342KJ	Trpzyme [®] 重组胰蛋白酶消化液，不含酚红，不含动物源成分	500 mL	2 ~ 8 $^{\circ}$ C	蓝冰
X342KJ	Trpzyme [®] 细胞消化液 1X	500 mL	2 ~ 8 $^{\circ}$ C	蓝冰
S340KJ	Trpzyme [®] 重组胰蛋白酶消化液，不含酚红，10X，不含动物源成分	500 mL	2 ~ 8 $^{\circ}$ C	蓝冰
B210KJ	磷酸盐缓冲液 (D-PBS)	500 mL	2 ~ 30 $^{\circ}$ C	常温
B310KJ	磷酸盐缓冲液 (PBS)，pH7.2	500 mL	2 ~ 30 $^{\circ}$ C	常温
B320KJ	磷酸盐缓冲液 (PBS)，pH7.4	500 mL	2 ~ 30 $^{\circ}$ 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