

## 抗CD19抗体（FMC63）CAR免疫原性ELISA试剂盒 （酶联免疫分析法）

### 【产品名称】

抗CD19抗体（FMC63）CAR免疫原性ELISA试剂盒

### 【规格】

96 Tests

### 【货号】

RAB-P001

### 【预期用途】

本试剂盒用于抗CD19抗体（FMC63）定量检测。

### 【检测原理】

本试剂盒应用ELISA桥连法。将Mouse FMC63 scFv固定在微孔板上，样本中的FMC63 ADA与微孔板上固定的Mouse FMC63 scFv结合，然后加入Biotin-Mouse FMC63 scFv，形成抗体-抗抗体-生物素标记抗体复合物，最后加入Streptavidin-HRP，用底物显色，随后用终止液终止，板孔中溶液会由蓝色变为黄色。使用酶标仪在450 nm和630 nm处测定样品吸光度值（OD<sub>450 nm</sub>、OD<sub>630 nm</sub>），OD<sub>450 nm</sub>- OD<sub>630 nm</sub>与样本中的抗FMC63抗抗体含量呈正相关。

### 【产品组份】

表1.产品组份

ID	组份名称	规格 (96 T)	物理状态	存储条件	
				未开启	已开启
RAB001-C01	High-bind Plate	1 plate	固体	2-8°C	2-8°C
RAB001-C02	Mouse FMC63 scFv	25 µg	冻干粉	2-8°C	-70°C
RAB001-C03	FMC63 ADA Standard	15 µg	冻干粉	2-8°C	-70°C
RAB001-C04	Biotin-Mouse FMC63 scFv	20 µg	冻干粉	2-8°C	-70°C
RAB001-C05	Streptavidin-HRP	50 µL	液体	2-8°C, 避光	2-8°C, 避光
RAB001-C06	Coating Buffer	12 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAB001-C07	10xWashing Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAB001-C08	Blocking Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAB001-C09	Substrate Solution	12 mL	液体	2-8°C, 避光	2-8°C, 避光
RAB001-C10	Stop Solution	7 mL	液体	2-8°C	2-8°C

### 【储存条件及有效期】

未开封：试剂盒保存于2-8°C，有效期见外包装标签。

已开封：试剂盒开封后各组分按照表1存储条件保存，有效期自开封之日起为30天，未使用完的微孔板条需与干燥剂一起密封保存。

注：不要使用过期试剂。

### 【需要但未提供的实验仪器与耗材】

1. 单道、多道微量移液器和移液器吸头：需满足10 µL、300 µL、1000 µL加样需求
2. 恒温培养箱
3. 酶标仪，含450 nm/630 nm波长
4. 离心管：1.5 mL，10 mL
5. 计时器

## 6. 试剂瓶

## 7. 超纯水或去离子水

### 【试剂准备】

使用前将所有试剂恢复至室温 (20°C-25°C)。如果溶液中有晶体形成，需平衡溶液至晶体完全溶解（可将溶液放置于恒温培养箱37°C平衡10-15 min）。

按照表2建议，用超纯水将所提供的冻干品配制成存储溶液，在室温下溶解15至30分钟，轻轻吹吸混匀，避免剧烈摇动或涡旋。重构的存储液应在-70°C保存，建议分装规格不低于5 µg，冻融次数不要超过1次。

表2. 配制方法

ID	组份名称	规格 (96 T)	存储液浓度.	重构水体积Vol.
RAB001-C02	Mouse FMC63 scFv	25 µg	200 µg/mL	125 µL
RAB001-C03	FMC63 ADA Standard	15 µg	100 µg/mL	150 µL
RAB001-C04	Biotin-Mouse FMC63 scFv	20 µg	100 µg/mL	200 µL

### 【检测流程】

#### 1. 包被

用 Coating Buffer (RAB001-C06) 将重构后的 Mouse FMC63 scFv (RAB001-C02) 稀释至 1.0 µg/mL，需现用现配，每孔加入 100 µL，贴上封板膜，2-8°C 孵育 16 h 或过夜。

#### 2. 洗板

小心揭开封板膜，弃去孔中液体，每孔加入 300 µL 1×Washing Buffer (取 50 mL 10×Washing Buffer (RAB001-C07)，用超纯水/去离子水稀释并定容至 500 mL，即得 1×Washing Buffer)，浸泡 5-10 s，共洗板 3 次。每次洗板需在吸水纸上轻轻拍干，也可选择机洗。

### 3. 封闭

每孔加入 300  $\mu$ L 的封闭液 Blocking Buffer (RAB001-C08)，室温孵育 2.0 h。

### 4. 洗板

重复步骤 2 洗板。

### 5. 加标准品及待测样本

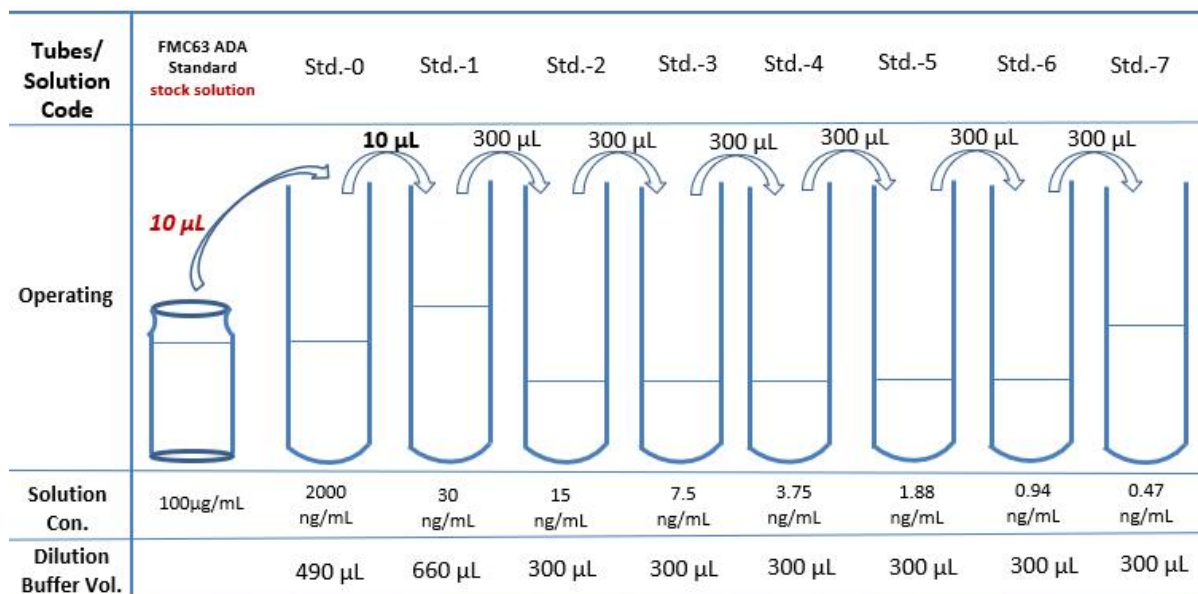
#### 5.1 稀释液 Dilution Buffer 制备

将 Blocking Buffer (RAB001-C08)，用 1xWashing Buffer 进行 4 倍稀释，即 Blocking Buffer 与 1xWashing Buffer 的体积比为 1:3。

**注：**使用者需根据实验用量确定配制量，以免配制量不满足实验用量。

#### 5.2 标准曲线制备

将标准品 (RAB001-C03) 参考下图做系列稀释。每次移液时，确保充分混匀。以稀释液作为标准曲线的零浓度。



### 5.3 样本处理

若待检样本为血清，用 Dilution Buffer 进行 20 倍稀释，样本与稀释液的体积比为 1:19。

### 5.4 加样

将待测样本和系列稀释后的标准品 (Std.-1 - Std.-7) 加入反应孔内，每孔加入 100  $\mu$ L，空白对照孔加入 100  $\mu$ L Dilution Buffer。待测样品和标准曲线建议设置复孔。

## 6. 孵育

用封板膜封板，室温孵育 1.0 h。

## 7. 洗板

重复步骤 2 洗板。

## 8. 加 Biotin-Mouse FMC63 scFv

用 Dilution Buffer 将重构后的 Biotin-Mouse FMC63 scFv 稀释至 0.05  $\mu$ g/mL，在对应板孔内加入 100  $\mu$ L，需现用现配。

## 9. 孵育

用封板膜封板，室温孵育 1.0 h。

## 10. 洗板

重复步骤 2 洗板。

## 11. 加 Streptavidin-HRP

用 Dilution Buffer 将 Streptavidin-HRP 进行 2000 倍稀释，在对应板孔内加入 100  $\mu$ L，需现用现配。避光保存，依次重复操作步骤 9 孵育及步骤 10 洗板。

## 12. 显色

每孔加入100  $\mu$ L Substrate Solution(RAB001-C09)。用封板膜封板，室温避光孵育20 min。

## 13. 终止

每孔加入50  $\mu$ L Stop Solution(RAB001-C10)，轻轻震荡酶标板至混合均匀。

注：孔中液体由蓝色变为黄色。

## 14. 读数

用酶标仪测定各孔在 450 nm 和 630 nm 波长的吸光值，请在终止后 5 分钟内读数。

注：各孔OD<sub>450 nm</sub>扣除OD<sub>630 nm</sub>读值可降低背景干扰。

### 【结果分析】

1. 标准曲线  $R^2$  应大于 0.9900，检测范围为 0.47-30 ng/mL。
2. 如果待测样品 OD 值超过标准曲线最高点，需将待测样品用样品稀释液进行稀释并重新测定。
3. 将标准曲线和待测样品的OD 值，扣减空白孔的OD 值后得到校准的吸光度值。以标准品的浓度为横坐标，用校准的吸光度值为纵坐标，绘制标准曲线。利用四参数拟合进行绘制标准曲线并进行样品浓度的计算。若使用直线拟合，需选取合适的作图区间绘制标准曲线，以保证浓度计算的准确性。

### 【注意事项】

1. 本产品仅供科研使用，不能用于治疗 and 诊断。
2. 请严格按使用说明进行操作。
3. 不可与其他厂家试剂混用。本试剂盒不同批号的试剂不能混用。

4. 使用前各组份需平衡至室温，保证溶液晶体全部溶解。请在结净的环境下进行操作使用。
5. 试剂盒请在 2-8°C 保存，请勿使用过有效期的试剂盒。

## 【TYPICAL DATA】

以下数据仅供参考，以实验测定的标准曲线结果进行样本浓度计算。

