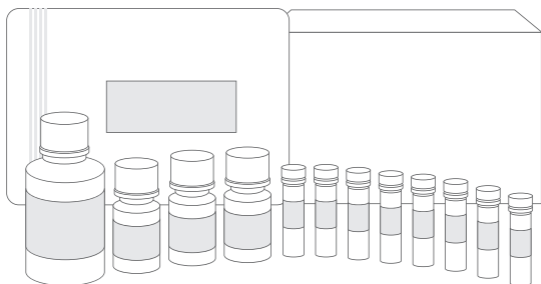


## CHO宿主细胞蛋白检测试剂盒 CHO HCP ELISA KIT

# 使用说明书

适用于中国仓鼠卵巢细胞(CHO)表达的蛋白样品中宿主细胞蛋白(Host Cell Protein, HCP)定量,包括但不限于抗体、重组蛋白、重组疫苗等生物制品的过程样品、原液及成品的杂质控制和产品放行检测。



# 使用说明书

## CHO宿主细胞蛋白检测试剂盒 (CHO HCP ELISA KIT)

本试剂盒包含CHO宿主细胞蛋白(HCP)检测所需要的全部组分。在操作使用前,请仔细阅读本试剂盒说明书,严格按照操作步骤进行。

### 一、背景介绍

大多数生物药物都是通过DNA重组技术,使用宿主细胞表达目标蛋白。CHO细胞是生物制药行业最常用的生产用哺乳动物宿主细胞系。在实际使用中,宿主细胞本身会大量表达蛋白质,因此目标蛋白会受到来源于宿主细胞的蛋白杂质污染,这些宿主细胞蛋白的存在不仅会降低药物疗效,而且有导致患者发生不良免疫原性反应的重大风险。因此,检测蛋白样品中HCP残留含量,并优化工艺降低HCP至可接受水平,是保证药物安全性和获得监管机构认证的关键。

各国相关法规对HCP的残留检测都有相应的要求。ELISA法是各国药典推荐方法,美国FDA建议含量 $<100\text{ppm}$ ,中国药典重组疫苗各论建议CHO细胞HCP $<0.05\%$ 。

本试剂盒中HCP抗体为兔抗,并经过特殊工艺纯化获得,2D/WB抗体覆盖度为80%。且为通用试剂盒,可用于大多数CHO细胞表达系统的工艺开发和质量控制。

### 二、实验流程

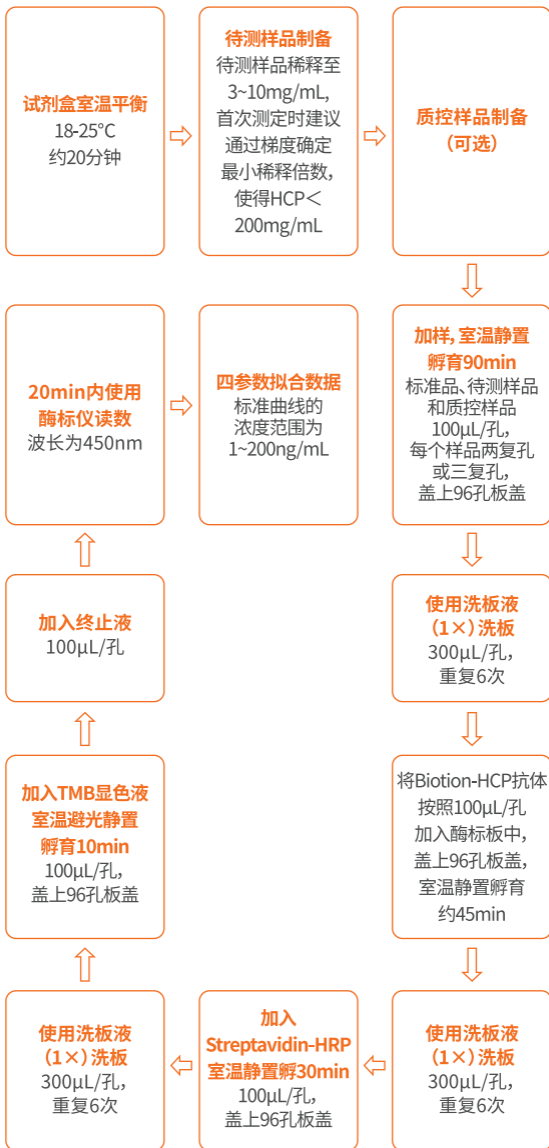
#### 1.检测原理

通过ELISA方法和辣根过氧化物酶催化TMB底物产生颜色反应,酶标仪450nm波长读取数值。利用CHO标准蛋白标准曲线来定量分析待测样品中HCP的含量。



产品仅用于科学研究  
不得用于临床诊断和治疗

## 2.具体方法



### 三、试剂盒组分和材料

#### 1. 试剂盒组分

编号	组成	货号	规格	储存温度
1	CHO HCP 标准品	RA-IP01-A-200	红 S6:200 ng/mL	2~8°C
		RA-IP01-A-100	橙 S5:100 ng/mL	
		RA-IP01-A-30	黄 S4:30 ng/mL	
		RA-IP01-A-10	绿 S3:10 ng/mL	
		RA-IP01-A-3	蓝 S2:3 ng/mL	
		RA-IP01-A-1	紫 S1:1 ng/mL	
		RA-IP01-A-0	白 S0:0 ng/mL	
2	可拆卸包被板	RA-IP01-B	12×8孔	2~8°C
3	Biotin-HCP抗体	RA-IP01-C	12 mL	2~8°C
4	Streptavidin-HRP	RA-IP01-D	30 uL	-20°C
5	洗板液(20×)	RA-IP01-E	50 mL	2~8°C
6	样品稀释液	RA-IP02-A	50ml	2~8°C
7	TMB显色液	RA-IP01-F	12 mL	2~8°C
8	终止液	RA-IP01-G	12 mL	2~8°C

#### 2. 其他仪器和耗材(需自备)

1. 各种规格微量移液器和吸头
2. 样品稀释管
3. 加样槽
4. 96孔板盖
5. 洗板机(可选)
6. 能用于读450nm光波吸收的酶标仪
7. 四参数曲线拟合软件(也可以用Microsoft Excel进行数据分析)

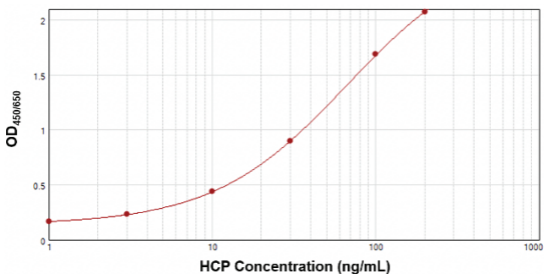
### 四、操作步骤

1. 在检测开始之前将试剂盒置于室温约20分钟,平衡到室温(18-25°C);
2. 待测样品制备:使用样品稀释液将待测样品稀释至3~10mg/mL。  
注意:若待测样品的HCP含量超过200ng/mL需扩大稀释倍数。  
首次测定时建议通过梯度稀释确定最小稀释倍数(Minimum Required Dilution, MRD);

3. 质控样品制备 (可选): 使用样品稀释液将待测样品稀释至待检浓度 (同操作2), 然后与30ng/mL的标准品 (命名为加标质控样品) 或样品稀释液 (命名为扣除对照样品) 按照1:1进行混合;
4. 用多通道移液器将标准品、待测样品和质控样品按照100 $\mu$ L/孔转移至酶标板中相应位置, 每个样品两复孔或三复孔, 盖上96孔板盖, 室温静置孵育约90min;
5. 使用洗板液 (1 $\times$ ) 手动或洗板机洗板, 每次300 $\mu$ L/孔, 重复6次。洗好后将板倒扣在纸巾上并轻拍数次以除去残留的液体;
6. 将Biotin-HCP抗体按照100 $\mu$ L/孔加入酶标板中, 盖上96孔板盖, 室温静置孵育约45min;
7. 使用洗板液 (1 $\times$ ) 手动或洗板机洗板, 每次300 $\mu$ L/孔, 重复6次。洗好后将板倒扣在纸巾上并轻拍数次以除去残留的液体;
8. 将Streptavidin-HRP溶液用样品稀释液稀释至1000倍, 按照100 $\mu$ L/孔加入酶标板中, 盖上96孔板盖, 室温静置孵育约30min;
9. 使用洗板液 (1 $\times$ ) 手动或洗板机洗板, 每次300 $\mu$ L/孔, 重复6次。洗好后将板倒扣在纸巾上并轻拍数次以除去残留的液体;
10. 将TMB显色液按照100 $\mu$ L/孔加入酶标板中, 避免气泡, 盖上96孔板盖, 室温避光静置孵育约10min;
11. 将终止液按照100 $\mu$ L/孔加入酶标板中, 避免气泡;
12. 在20min内使用酶标仪读数, 波长为450nm, 使用四参数拟合数据。标准曲线的浓度范围为1~200ng/mL。建议将标准品浓度0ng/ml的吸光值作为系统适用性的空白对照。

## 五、标准曲线示例

标准曲线的浓度范围为1~200ng/mL, 数据分析时采用四参数拟合方法,  $R^2$ 为0.999。



## 六、特别提示

1. 本检测试剂盒仅供有实验室安全常识的专业技术人员使用。在使用此产品之前,请务必仔细阅读产品说明书。
2. 终止试剂液是酸性的,操作过程中需要格外注意,防止与皮肤和眼睛接触。
3. Streptavidin-HRP须在收货后置于-20°C长期存储,其余试剂2~8°C存储。

## 七、注意事项

1. 若待测样品的HCP含量超过200ng/mL需扩大稀释倍数。
2. 样品首次测定时,建议通过梯度稀释确定最小稀释倍数(Minimum Required Dilution, MRD)。
3. 为保证较好的准确性和重复性,请进行两复孔或三复孔操作。
4. 尽量避免使用边缘孔,以免因为边缘效应影响实验数据的准确。

## 八、结果分析与计算

HCP标准品、质控样品、待测样品均做两个或三个重复,并取其平均值。用对数作图纸或作图软件(四参数校正)制作标准曲线,由此推算出样品中宿主细胞蛋白质的浓度。

质控样品的回收率计算:(加标质控样品的HCP浓度-扣除对照样品的HCP浓度)/15×100%,质控样品的回收率应在50%~150%范围内。若不在范围内,需进一步排查待检样品的浓度是否低于MRD以及样品基质的干扰情况。

注:计算待测样品中宿主细胞蛋白浓度时请注意把样品的稀释倍数考虑在内。

## 九、技术支持

有任何技术问题或技术支持,请联系:

✉ techserv@rhinobio.com



扫码了解更多产品信息