

# Add&Read Human IgG Kit

DD2101



---

使用说明书

Version 20.1

# 目录 Contents

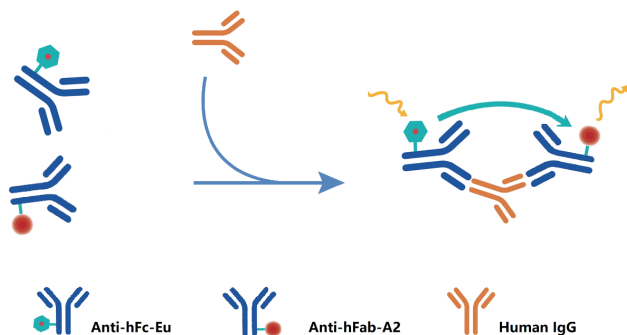
01/产品概述 .....	02
02/产品组分 .....	02
03/保存条件 .....	02
04/适用范围 .....	03
05/自备材料 .....	03
06/注意事项 .....	03
07/实验流程 .....	03
07-1/试剂配制 .....	03
07-2/样品准备 .....	04
07-3/反应体系 .....	04
08/数据处理 .....	05

\*所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

## 01/产品概述

Human IgG Kit可用于检测细胞上清中或者纯化后的Human IgG浓度。试剂盒中有两株识别Human IgG的抗体，分别为：识别Fc区域的抗体Anti-hFc(标记荧光供体Eu, Anti-hFc-Eu)；识别Fab区域的抗体Anti-hFab(标记荧光受体A2, Anti-hFab-A2)。

当Anti-hFc-Eu和Anti-hFab-A2距离靠近时(发生结合作用)，可发生荧光共振能量转移(FRET)。使用320 nm的光激发荧光供体Eu, Eu发射 620 nm的光，此620 nm的光激发荧光受体A2, A2发射665 nm的光。待测Human IgG浓度与FRET信号值(665 nm/620 nm的光强度比值)成正比。



## 02/产品组分

组 分	DD2101-01(500 tests)	DD2101-02(10,000 tests)
IgG Standard	1 vial	1 vial
Anti-hFc-Eu	50 $\mu$ l	1 ml
Anti-hFab-A2	50 $\mu$ l	1 ml
Diluent	20 ml	20 ml
Detection buffer	7 ml	105 ml

## 03/保存条件

Human IgG Kit于-30 ~ -15 $^{\circ}$ C保存,  $\leq 0^{\circ}$ C运输；

IgG Standard冻干粉于2 ~ 8 $^{\circ}$ C保存，加入ddH<sub>2</sub>O溶解后分装于-30 ~ -15 $^{\circ}$ C保存，避免反复冻融；

Anti-hFc-Eu和Anti-hFab-A2于-30 ~ -15 $^{\circ}$ C保存，避免反复冻融；

Diluent和Detection buffer于-20 ~ 4 $^{\circ}$ C保存。

## 04/适用范围

细胞上清、纯化后蛋白

## 05/自备材料

96/384浅孔板

酶标仪(配置HTRF/TR-FRET模块)

## 06/注意事项

1. Anti-hFc-Eu以及Anti-hFab-A2建议在储存液条件下(50 ×)分装于-30 ~ -15°C保存, 避免反复冻融。
2. IgG Standard加入ddH<sub>2</sub>O溶解后分装于-30 ~ -15°C保存, 避免反复冻融。

## 07/实验流程

### 07-1/试剂配制

1. Anti-hFc-Eu和Anti-hFab-A2工作液配制(储存液为50 ×)

96/384浅孔板的反应体积为20 μl, 建议每20 μl体系中各加入5 μl Anti-hFc-Eu和Anti-hFab-A2工作液。在配制之前先计算本次实验所需的Anti-hFc-Eu和Anti-hFab-A2体积:  $V = (\text{孔数} \times 5/50) \mu\text{l}$

◇ Anti-hFc-Eu工作液配制:

- 将Anti-hFc-Eu从冰箱中取出, 室温放置使其溶解, 为50 × 储存液。
- 向1体积Anti-hFc-Eu(V μl)中加入49体积Detection buffer(49V μl), 混合均匀。

◇ Anti-hFab-A2工作液配制:

- 将Anti-hFab-A2从冰箱中取出, 室温放置使其溶解, 为50 × 储存液。
- 向1体积Anti-hFab-A2(V μl)中加入49体积Detection buffer(49V μl), 混合均匀。

▲ Anti-hFc-Eu以及Anti-hFab-A2建议在储存液条件下(50 ×)分装于-30 ~ -15°C保存, 避免反复冻融。

2. IgG Standard配制

96/384浅孔板的反应体积为20 μl, 每孔需要IgG Standard 10 μl, 在配制之前计算所需的IgG Standard体积。按照以下步骤配制可获得200 μl IgG Standard。

- 向IgG Standard的西林瓶中加入2.5 ml ddH<sub>2</sub>O, 溶解充分后, 取150 μl 溶解后的IgG Standard, 加入150 μl Diluent, 混合均匀, 此为Std 8。
- 取100 μl Std 8, 加入200 μl Diluent, 混合均匀, 获得Std 7。
- 以同样方式进行3倍梯度稀释, 获得Std 6 - Std 1。

Standard	稀释方式	IgG Standard浓度, ng/ml
Std 8	-	2000
Std 7	100 $\mu$ l Std 8 + 200 $\mu$ l Diluent	666.67
Std 6	100 $\mu$ l Std 7 + 200 $\mu$ l Diluent	222.22
Std 5	100 $\mu$ l Std 6 + 200 $\mu$ l Diluent	74.07
Std 4	100 $\mu$ l Std 5 + 200 $\mu$ l Diluent	24.69
Std 3	100 $\mu$ l Std 4 + 200 $\mu$ l Diluent	8.23
Std 2	100 $\mu$ l Std 3 + 200 $\mu$ l Diluent	2.74
Std 1	100 $\mu$ l Std 2 + 200 $\mu$ l Diluent	0.91
Std 0	200 $\mu$ l Diluent	0

▲ IgG Standard加入ddH<sub>2</sub>O溶解后分装于-30 ~ -15℃保存，避免反复冻融。

## 07-2/样品准备

样品使用Diluent或者新鲜配制的含0.5% BSA，pH 7.0 的buffer进行稀释。

## 07-3/反应体系

### 1.加样

96/384浅孔板反应体积为20  $\mu$ l，按照下表实验分组及反应体系进行样品加样。

	Standard/样品	阴性对照	Eu对照	Buffer对照
IgG Standard/样品	10 $\mu$ l	-	-	-
Anti-hFc-Eu	5 $\mu$ l	5 $\mu$ l	5 $\mu$ l	-
Anti-hFab-A2	5 $\mu$ l	5 $\mu$ l	-	-
Diluent	-	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l
Detection buffer	-	-	5 $\mu$ l	10 $\mu$ l

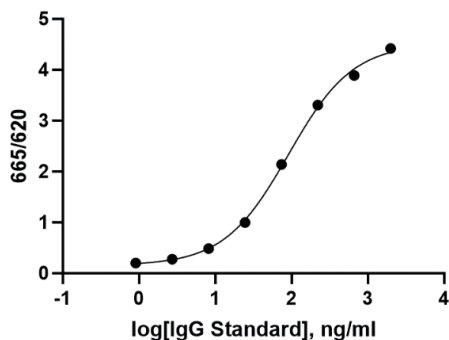
## 2. 试剂添加顺序为

- 向96/384浅孔板中加入10  $\mu$ l IgG standard/样品。
  - 加入5  $\mu$ l Anti-hFab-A2，用移液器在加样孔内轻柔混合两次。
  - 加入5  $\mu$ l Anti-hFc-Eu，用移液器在加样孔内轻柔混合两次。（可以将Anti-hFab-A2和Anti-hFc-Eu以体积1:1混合均匀，向反应体系加入10  $\mu$ l，用移液器在加样孔内轻柔混合两次）。
- 室温或25 $^{\circ}$ C孵育2 h，用酶标仪（配置HTRF模块）检测，激发光为320 nm，检测两个波长（665 nm和620 nm）的发射光。

## 08/数据处理

将665 nm的荧光值除以620 nm的荧光值，获得665/620值。以 $\log_{10}$  [样品浓度]为横坐标，665/620的值为纵坐标，曲线拟合进行曲线的制作。

Std No.	[IgG Standard], ng/ml	665/620
Std 8	2000	4.4166
Std 7	666.67	3.8872
Std 6	222.22	3.3026
Std 5	74.07	2.1370
Std 4	24.69	0.9927
Std 3	8.23	0.4833
Std 2	2.74	0.2723
Std 1	0.91	0.1999
Negative control	-	0.1641







**Vazyme Biotech Co., Ltd.**

Web: [www.vazyme.com](http://www.vazyme.com)

Tel: 400-600-9335

Sales: [sales@vazyme.com](mailto:sales@vazyme.com)

Support: [support@vazyme.com](mailto:support@vazyme.com)

Service: [service@vazyme.com](mailto:service@vazyme.com)

