



Sumo 酶残留检测 ELISA 试剂盒

目录

1. 产品介绍.....	1
2. 操作步骤.....	1
3. 注意事项.....	3
4. 订购信息及相关产品.....	4

1. 产品介绍

Sumo 酶在将融合蛋白上的 Sumo 标签切除后，一般需要将其去除，原因如下：

1. 避免非特异性蛋白降解：Sumo 酶作为半胱氨酸蛋白酶，即使完成 Sumo 标签切割后仍保留催化活性。若残留于样品中，可能识别并切割其他含有 Sumo 修饰的蛋白（如细胞内源 Sumo 化蛋白），导致非目标蛋白降解或功能异常。
2. 维持目标蛋白纯度与稳定性：Sumo 酶分子量约 45 kDa，含有 His 标签（商业化酶常见设计）。残留的酶分子会污染最终产物，尤其当目标蛋白需用于结构解析、药物开发或功能性实验时，杂质酶可能干扰实验结果或降低蛋白均一性。
3. 防止下游应用干扰：在酶动力学、细胞实验或动物模型中，残留 Sumo 酶可能持续切割实验体系中的 Sumo 化修饰蛋白，改变信号通路活性；另外在体内应用时，还可能诱发免疫反应。
4. 符合药用蛋白生产规范：重组蛋白药物生产中，各国药典对杂质残留有严格限制。即使微量蛋白酶也可能影响产品安全性和批间一致性，因此必须清除。

本试剂盒采用双抗体夹心 ELISA 法实现高灵敏度、高特异性的 Sumo 酶定量检测。抗 Sumo 酶抗体已包被于酶标板上，按照操作顺序，向酶标板中依次加入标准品、待测样品和一抗、二抗，样本和标准品中的 Sumo 酶会被包被于酶标板上的抗体捕获，然后被后续加入的一抗识别，形成免疫复合物，通过洗板，游离的成分被洗去；加入辣根过氧化物酶（HRP）标记的二抗，其与一抗特异性结合，以放大检测信号，二抗与后续加入的 TMB（3，3'，5，5'-四甲基联苯胺）底物反应，HRP 催化 H₂O₂ 氧化 TMB 生成蓝色产物，随后加入终止液终止酶催化反应，生成黄色产物。通过酶标仪测定 450 nm OD 值，Sumo 酶浓度与 OD₄₅₀ 值之间呈正相关，可通过试剂盒内的标准品生成的标准曲线计算出样本中 Sumo 酶浓度。

本试剂盒 Sumo 酶残留最低检测限度 0.06 ng/ml，检测范围 0.06 ng/ml-13.72 ng/ml。

表 1. Sumo 酶残留检测 ELISA 试剂盒组成和保存条件

组分	数量	规格	保存温度
96 孔预包板	1 块	96 T	2-8 °C
Sumo 酶标准品	1 支	0.01 mg/ml、1 ml/支	
一抗	1 支	200 µl/支	
二抗	1 支	5 µl/支	
10×清洗液	1 瓶	150 ml/瓶	
TMB 显色液	1 瓶	15 ml/瓶	
终止液	1 瓶	15 ml/瓶	

2. 操作步骤

2.1 试剂准备

- 1) 将试剂盒所有组分恢复至室温；
- 2) 清洗液：将 10×清洗液用去离子水稀释至 1×混合均匀；
注：整板使用量为 50 ml 10×清洗液，用 450 ml 去离子水稀释至 500 ml，可根据实验所需板条量稀释合适体积清洗液；
- 3) 标准品：将 10000 ng/ml 浓度的 Sumo 酶标准品，用 1×清洗液 3 倍倍比稀释至 41.15 ng/ml，稀释过程见表 2，并按照表 3 稀释浓度为 13.72 ng/ml、4.57 ng/ml、1.52 ng/ml、0.51 ng/ml、0.17 ng/ml、0.06 ng/ml 的标曲；

表 2. Sumo 酶标准品预稀释对照表

编号	清洗液体积 (µl)	加入样品体积和来源 (µl)	Sumo 酶终浓度 (ng/ml)
1	200	100 µl 10000 ng/ml 标准品	3333.33
2	200	100 µl 1	1111.11
3	200	100 µl 2	370.37





表 2. Sumo 酶标准品预稀释对照表（续）

编号	清洗液体积 (μl)	加入样品体积和来源 (μl)	Sumo 酶终浓度 (ng/ml)
4	200	100 μl 3	123.46
5	200	100 μl 4	41.15

表 3. Sumo 酶标准品标准曲线稀释对照表

编号	稀释液体积 (μl)	样品体积和来源 (μl)	Sumo 酶终浓度 (ng/ml)
A	400	200 μl 41.15 ng/ml 标准品	13.72
B	400	200 μl A 稀释液	4.57
C	400	200 μl B 稀释液	1.52
D	400	200 μl C 稀释液	0.51
E	400	200 μl D 稀释液	0.17
F	400	200 μl E 稀释液	0.06
G	400	0	0

4) 一抗：用 1×清洗液稀释 100 倍后使用，现配现用；

注：整板使用量为 100 μl 一抗样品，用 9900 μl 1×清洗液稀释至 10 ml，可根据实验所需板条量稀释合适体积一抗样品；

5) 二抗：用 1×清洗液稀释 5000 倍后使用，现配现用；

注：整板使用量为 2 μl 二抗样品，用 9998 μl 1×清洗液稀释至 10 ml，可根据实验所需板条量稀释合适体积二抗样品；

2.2 样品准备

1) 待测样品应澄清，沉淀需离心去除；

2) 使用 1×清洗液稀释备用，推荐稀释后浓度为 0.01~1 mg/ml，稀释后待测样品体积应不小于 200 μl；

2.3 实验步骤

2.3.1 样品孵育

1) 从冰箱里按需要取出板条，将不用的板条放回铝箔袋，保存于 2-8℃；

2) 将稀释好的编号 A~G 标准品及待测样品按每孔 100 μl 加入到酶标板中，建议每个标准品或待测样品至少 3 个复孔；

3) 将酶标板用 parafilm 封口膜或硅胶盖覆盖好，避光放置 37℃孵育 1 h；

4) 孵育结束后甩干孔内液体，加入 1×清洗液 300 μl/孔进行清洗，再次甩干孔内液体并将酶标板倒置在吸水纸上轻轻拍打以去除残留液体并彻底干燥，重复清洗共 5 次；

2.3.2 一抗孵育

1) 将稀释好的一抗，按每孔 100 μl 加入到酶标板中；

2) 将酶标板用 parafilm 封口膜或硅胶盖覆盖好，避光放置 37℃孵育 1 h；

3) 孵育结束后甩干孔内液体，加入 1×清洗液 300 μl/孔进行清洗，再次甩干孔内液体并将酶标板倒置在吸水纸上轻轻拍打以去除残留液体并彻底干燥，重复清洗共 3 次；

2.3.3 二抗孵育

1) 将稀释好的二抗，按每孔 100 μl 加入到酶标板中；

2) 将酶标板用 parafilm 封口膜或硅胶盖覆盖好，避光放置 37℃孵育 1 h；

3) 孵育结束后甩干孔内液体，加入 1×清洗液 300 μl/孔进行清洗，再次甩干孔内液体并将酶标板倒置在吸水纸上轻轻拍打以去除残留液体并彻底干燥，重复清洗共 3 次；

2.3.4 显色

1) 提前先将 TMB 显色液恢复至室温，按每孔 100 μl 加入酶标板中，25℃避光反应 5 min；

2) 显色结束后，立即加入 100 μl/孔终止液终止反应；

2.3.5 读数

用酶标仪在 450 nm 波长读取数据（应在加入终止液 5 分钟内进行）；

2.3.6 结果分析与计算

1) 样品 OD 值=测量 OD₄₅₀-空白 OD₄₅₀，OD 值取复孔平均值；

2) 以标准品浓度作横坐标，OD 值作纵坐标，用 Origin 或 prism 等相关软件，对编号 A~F 标准品 OD 值结果进行四参数曲线拟合（Four parameter logistic curve），校准曲线的 R² ≥ 0.99；

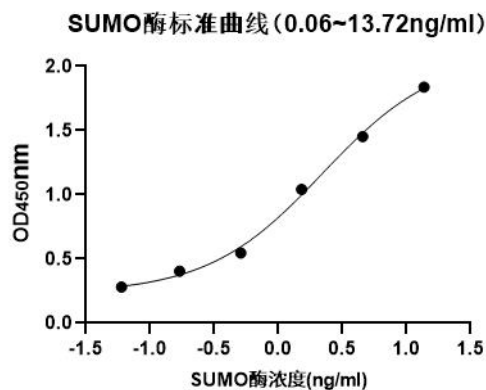




- 3) 利用拟合的标准曲线计算出待测样品中 Sumo 酶含量;
- 4) 若样本 OD 值高于校准曲线上限, 应适当稀释后重新检测, 最后计算浓度时应乘以稀释倍数;

示例:

Sumo 酶浓度 ng/ml	OD ₄₅₀
13.72	1.9552
4.57	1.4619
1.52	0.8773
0.51	0.6082
0.17	0.4786
0.06	0.3798
0	0.1153
R ²	0.9978



3. 注意事项

- 1) 试剂及样品稀释时, 均需混合均匀;
- 2) 初次使用试剂盒时, 将各种试剂离心数分钟, 使试剂集中在管底;
- 3) 各种试剂根据需要配置使用, 未用完试剂请勿倒回试剂瓶;
- 4) 为防止样品蒸发或污染, 孵育过程中酶标板必须使用 parafilm 封口膜或硅胶盖进行覆盖;
- 5) 务必将稀释后的标曲样品、待测样品、空白样品按照同样的操作步骤进行处理;
- 6) 实验所用枪头、加样槽及离心管应一次性使用;
- 7) TMB 显色时需提前恢复至室温, 且严格控制显色时间, 显色时间到后应尽快加入终止液;
- 8) 为了保证实验结果的准确性, 终止液的加入顺序应尽量与显色液的加入顺序相同;
- 9) 该试剂盒的最佳显色温度为 25℃, 温度过高或过低都将导致检测吸光值和灵敏度发生变化;
- 10) 检测过程中, 酶标板清洗后需充分拍干, 避免残留及串孔影响检测;
- 11) 本产品仅限科研使用。

4. 订购信息及相关产品

产品名称	货号	规格
Sumo 酶残留检测 ELISA 试剂盒	SLR01701	96 T
Sumo Protease	SLP00700	1 mg
	SLP00701	10 mg
	SLP00702	100 mg
	SLP00703	500 mg
	SLP00704	1000 mg

