

# **RIDASCREEN<sup>®</sup> Risk Material**

夹心酶联免疫法定量检测经加工（加热）过的肉类和香肠中的风险物质（CNS：神经中枢脑组织细胞）

订货号：R6701

体外检测试剂

储存温度 2 - 8 °C

拜发分析系统销售（北京）有限公司

电话：+86 10 8458 3218 传真：+86 10 8458 0691

地址:

拜发分析系统销售（北京）有限公司  
北京市朝阳区霄云路 26 号 鹏润大厦 B2908  
邮编: 100016  
[www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com)

欢迎随时联系德国拜发中国区:

电话:

客服中心: +86 10 8458 3218

传真/邮箱:

销售部: +86 10 - 84 58 32 18 - 223  
[info@r-biopharm.cn](mailto:info@r-biopharm.cn)

市场部:

+86 10 - 84 58 32 18 - 217  
[info@r-biopharm.cn](mailto:info@r-biopharm.cn)

RIDA<sup>®</sup> 和 RIDASCREEN<sup>®</sup>

均为R-Biopharm 德国拜发公司的注册品牌标志  
制造商: R-Biopharm AG, Darmstadt, 德国

R-Biopharm AG 拥有 ISO 9001 认证。

RIDA<sup>®</sup> and RIDASCREEN<sup>®</sup>

are registered trademarks of R-Biopharm AG  
Manufacturer: R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany

R-Biopharm AG is ISO 9001 certified.

## 产品简介

**RIDASCREEN® Risk Material**（订货号：**R6701**）风险物质（神经中枢脑组织细胞）检测试剂盒，采用夹心酶联免疫反应，用于定量检测经加工（加热）过的肉类和香肠中的风险物质（**CNS**：神经中枢脑组织细胞）。

试剂盒中含有酶联免疫检测所需的所有试剂，包括标准品。

试剂盒足够进行 **96** 次检测（包括标准测定）。

定量分析需要使用微孔板酶标仪。

本试剂盒对技术人员无任何专业特殊使用技能的要求。若需要我们乐意为您提供免费的使用培训。

样品处理：	均质、提取、离心和稀释
检测时间：	样品制备（以 10 个样品为例） ..... 约 1 h 检测过程（孵育时间） ..... 1 h
检测限：	≤ 0.2 % 对经加工（加热）过的肉类和香肠样品中神经中枢脑组织细胞样品的检测
特异性：	<b>RIDASCREEN® Risk Material</b> 风险物质（神经中枢脑组织细胞）检测试剂盒可用于牛、小牛、绵羊、山羊、马、家禽和猪等动物体内神经中枢脑组织细胞（ <b>CNS</b> ）组织的检测。特殊组织，如脑、脊髓、眼球等不适于检测。
提示：	若要检测生（鲜）肉，肉制品及污染表面的风险物质（ <b>CNS</b> ：神经中枢脑组织细胞），请使用订货号为 <b>R6703</b> 的 <b>RIDASCREEN® Risk Material 10/5</b> 风险物质（神经中枢脑组织细胞 <b>CNS</b> ）检测试剂盒。

## 1. 用途

RIDASCREEN® Risk Material 风险物质（神经中枢脑组织细胞）检测试剂盒，采用夹心酶联免疫反应，用于定量检测经加工（加热）过的肉类和香肠中的风险物质（CNS：神经中枢脑组织细胞）。

## 2. 引言

牛海绵状脑病，又称疯牛病，1986年首诊于英国。目前为止，其分子感染机制仍不甚为知，但明确的是，朊病毒蛋白（prPsc）在该病传播和致脑病中起着主要的作用。喂食未经充分加热的动物肉类可能是导致疯牛病的主要原因。至2000年底，已有18万头牛死于疯牛病。使用被感染的动物脑部组织及其提取物可导致传染其他动物及畜种。目前已在奶牛、绵羊、山羊、猫和很多其他哺乳动物中发现了类似疾病。据专家推测，变异型人克雅病（vCJD）便是由被感染的牛及牛肉产品引起的，该病的死亡率高达100%，至2002年5月，已有111人死于变异型人克雅病。为此人们采取了一系列的保护措施，如动物肉类及蛋白类物质不再允许作为动物饲料被使用（2000/766/EG），欧盟（2000/418/EG）/（2001/999/EG）食品生产中禁止使用可能的风险性物质等。

## 3. 检测原理

检测的基础是抗原抗体反应。通过对胶质纤维酸性蛋白（GFAP）的检测确定风险物质的含量。胶质纤维酸性蛋白（GFAP）是大量存在于风险物质（CNS）中的一种细胞标记物。微孔板中包被有针对胶质纤维酸性蛋白（GFAP）的特异性抗体。如果样品中含有风险物质（CNS），那么其中含有的胶质纤维酸性蛋白（GFAP）就会和捕获抗体结合。通过过氧化物酶标记的GFAP抗体（酶连接物）检测连接上的抗原的含量。没有结合的酶连接物在洗涤步骤中被出去。将底物/发色剂加入到孔中。结合的酶连接物将发色剂转化为蓝色的产物。加入反应终止液后使颜色由蓝色转变为黄色。在450 nm处测量。吸光度值与样品中的风险物质浓度成正比。

## 4. 试剂盒组份

每一个盒中的试剂足够进行96个试验（包括标准测定），盒中的组份如下：

1 x 96孔微孔板（12条每条8孔）

包被有针对胶质纤维酸性蛋白（GFAP）的抗体

4 x 标准品（每瓶1.3 ml）

胶质纤维酸性蛋白（GFAP）水溶液

对应含有0%（零标准品），0.2%，1.0%，2.0%的风险物质（CNS）的样

品

即用型

- 1 x 酶连接物 (6 ml) ..... 红色瓶盖  
过氧化物酶标记的针对胶质纤维酸性蛋白 (GFAP) 的抗体  
即用型
- 1 x 底物/发色剂溶液 (10 ml) ..... 棕色瓶盖  
红色, 含有四甲基对二氨基联苯
- 1 x 反应终止液 (14 ml) ..... 黄色瓶盖  
含 1 N 的硫酸
- 1 x 样品缓冲液 (10 ml) ..... 白色瓶盖  
10 倍浓缩液  
含 0.5 % 十二烷基硫酸钠 SDS
- 1 x 提取物缓冲液 (100 ml)  
10 倍浓缩液  
含 10 % 十二烷基硫酸钠 SDS
- 1 x 洗涤缓冲液 (盐)  
用于制备 10 mM 的磷酸缓冲液, pH 7.4  
含有 0.05 % Tween 20

## 5. 另需的试剂和设备

### 5.1. 设备:

- 微孔板酶标仪 (450 nm)
- 离心机 + 离心管
- 搅拌器, 研钵或电动搅拌棒
- 水浴锅 (100 °C)
- 刻度移液管
- 可调式 20 µl - 200 µl 和 200 - 1000 µl 微量移液器

## 6. 操作者应该注意之事项

反应终止液中含 1 N 的硫酸。(R36/38, S2-26)

提取和样品缓冲液中含有十二烷基硫酸钠 SDS。避免接触眼睛、皮肤和衣服。

## 7. 储存条件

保存试剂盒于 2 - 8 °C, 不要冷冻。

将不用的微孔板放进原锡箔袋中并且与提供的干燥剂一起重新密封储存于 2 - 8 °C 条件下。

底物/发色剂对光敏感，因此要避免直接暴露在光线下。

对过了有效期（见试剂盒标签）的试剂盒不再提供任何质量保证。

不能交叉使用不同批号的盒中试剂。

## 8. 试剂变质的迹象

- 红色底物/发色剂在使用前发现颜色变蓝。
- 标准品 4 (2.0 %) 的吸光度值小于 0.8 ( $E_{450\text{ nm}} < 0.8$ )。

## 9. 样品处理

### 9.1. 肉类和香肠样品

请注意：

样品的处理过程对胶质纤维酸性蛋白（GFAP）的释放有决定性的影响，所以必须应特别注意！

- 样品粉碎，使用搅拌器或电动搅拌棒均质
- 称取 2 g 均质样品于离心管中，加入 10 ml 稀释提取缓冲液（参见 10.1）并用力振荡（或使用漩涡混合器）使样品成为悬浮液。
- 加热至 100 °C 煮沸 15 min
- 样品冷却并离心：10 min / 3500 g / 10 °C
- 完全去除上层油脂层（例如使用巴斯德移液管吸出）
- 无油脂的上清液按 1:20 (1+19) 比例用稀释样品缓冲液稀释（参见 10.1.）（例如：50 µl 上清液 + 950 µl 稀释缓冲液）
- 每孔取 50 µl 进行检测

样品储存：

用样品缓冲液稀释后的提取物上清液可以在 2 - 8 °C 条件下保存 8 星期。在使用前需将样品回温至室温（20 - 25 °C）并再次稍微振荡。

## 10. 检测步骤

### 10.1. 检测前的准备

使用之前将所有试剂回温至室温（20 - 25 °C）。

**提取物缓冲液**为 10 倍浓缩液，所以在使用前须按 1:10（1+9）比例用蒸馏水稀释。如果在浓缩液中出现结晶，需在水浴锅中在 37 °C 条件下溶解。建议对提取物缓冲液一次性稀释（也就是 100 ml 缓冲液浓缩液 + 900 ml 蒸馏水）。

稀释后的提取物缓冲液可以保存至缓冲液标签上表明的有效期截至日。为了避免再次结晶，可以将提取物缓冲液保存于室温（20 - 25 °C）条件下。

**样品物缓冲液**为 10 倍浓缩液，所以在使用前须按 1:10（1+9）比例用蒸馏水稀释。如果在浓缩液中出现结晶，需在水浴锅中在 37 °C 条件下溶解。建议对样品缓冲液一次性稀释（也就是 10 ml 缓冲液浓缩液 + 90 ml 蒸馏水）。

稀释后的样品物缓冲液可以在 2 - 8 °C 条件下保存至缓冲液标签上表明的有效期截至日。

**洗涤缓冲液**是 PBS-Tween 缓冲液，为此试剂盒中提供了一袋洗涤缓冲液盐（参见 4.）。使用 1 l 蒸馏水溶解一袋洗涤缓冲液盐制得缓冲液。制备好的缓冲液可在 2 - 8 °C 下保存大约 4 - 6 周时间。

或者：用 100 ml 蒸馏水溶解袋中的洗涤缓冲液盐，得到 10 倍的洗涤缓冲液盐浓缩液，此溶液能在室温（20 - 25 °C）下储存 8 - 12 周。使用时，用 9 份蒸馏水溶解 1 份此浓缩液得到洗涤缓冲液。

## 10.2. 检测步骤

仔细洗板非常重要。避免在操作过程中微孔出现干燥。

1. 将足够标准品和样品检测所需数量的孔条插入微孔板架。记录标准品和样品的位置。
2. 50 µl 标准品或处理好的样品溶液加到相应的微孔中。
3. 向每一个对应微孔中加入 50 µl 酶连接物（红色瓶盖），充分混合在室温（20 - 25 °C）条件下孵育 30 分钟。
4. 倒出孔中的液体，将微孔板架倒置在吸水纸上拍打（每轮拍打 3 次）以保证完全除去孔中的液体。用洗涤缓冲液（参见 10.1.）对每个微孔进行洗涤。上述操作重复进行两遍。
5. 向每一个微孔中加入 100 µl 底物/发色剂（棕色瓶盖），充分混合后在室温（20 - 25 °C）条件下暗处孵育 30 分钟。
6. 向每一个微孔中加入 100 µl 反应终止液（黄色瓶盖），充分混合。在加入反应终止液后 30 分钟内于 450 nm 处测量吸光度值。

## 11. 结果评估

将选出的标准品的颜色作为参照标准。

请使用R-Biopharm德国拜发公司专门为RIDASCREEN® 系列产品设计的应用软件RIDA® SOFT Win（订货号：Z9999）来进行结果分析。检测数据会自动被酶标仪收集并根据线性回归模型进行评估。

关于标准曲线请参看试剂盒中附带的质保证书。

### 图形分析：

根据标准品对应的吸光度值，绘成一个与风险物质浓度 [%] 相关的半对数坐标系统的曲线图。标准品的测定值对应一条校准直线，每种样品中的风险物质浓度 % 可以通过对应的吸光度值从校准曲线上读出。

### **备注：**

**RIDASCREEN® Risk Material**风险物质（神经中枢脑组织细胞）检测试剂盒对于加工（加热）过的肉类和香肠中的风险物质的检测限  $\leq 0.2\%$ 。**RIDASCREEN® Risk Material**风险物质（神经中枢脑组织细胞）检测试剂盒对于加工（加热）过的肉类和香肠中的风险物质的定量限  $\leq 0.4\%$ 在进行结果说明的时候请注意，在不同的含有风险物质的组织中（脑、脊髓、眼球）标记蛋白的含量有很大的不同。脊髓组织样品中低浓度的标记蛋白可以导致检测结果为阳性。

生肉样品中的天然标记蛋白同样会导致低浓度情况下的阳性检测结果。

以上信息是基于我们现有知识的基础上对我们的产品及其相关应用的说明。而并非对产品的任何特定性能或特定使用目的进行担保。R-Biopharm 德国拜发公司不承担除试剂基本品质之外的任何责任。除因产品使用而造成的直接或间接损坏及损失外，其它有缺陷的试剂盒可退换。