

新型冠状病毒(B.1.1.529) RBD蛋白特异性检测试剂盒(疫苗开发)

(酶联免疫分析法)

【产品名称】

新型冠状病毒(B.1.1.529) RBD蛋白特异性检测试剂盒(疫苗开发)

【规格】

96 Tests

【货号】

RAS-A082

【预期用途】

本试剂盒用于新型冠状病毒(B.1.1.529) RBD蛋白特异性定量检测。

【检测原理】

本试剂盒应用ELISA夹心法。微孔板预包被了Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD (B.1.1.529) Antibody，样本中的SARS-CoV-2 Spike RBD (B.1.1.529)与微孔板上固定的Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD (B.1.1.529) Antibody结合，然后加入HRP-Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD Antibody，形成抗体-抗原-酶标记抗体复合物，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_{450 nm}、OD_{630 nm}），OD值与样本中的新型冠状病毒(B.1.1.529)RBD蛋白含量呈正相关。

【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
RAS082-C01	Pre-coated Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD (B.1.1.529) Antibody Microplate	1 plate	固体	2-8°C	2-8°C
RAS082-C02	SARS-CoV-2 Spike RBD (B.1.1.529)	10 µg	冻干粉	2-8°C	-70°C
RAS082-C03	HRP-Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD Antibody	20 µg	冻干粉	2-8°C, 避光	-70°C, 避光
RAS082-C04	10xWashing Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS082-C05	Dilution Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS082-C06	Substrate Solution	12 mL	液体	2-8°C, 避光	2-8°C, 避光
RAS082-C07	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，试剂盒自生产之日起有效期为12个月，有效期见外包装盒标签。

已开封：试剂盒开封后各组份按照表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：1. 不要使用过期试剂。

2. 冻干粉重构后需-70°C储存，建议冻融次数不要超过3次。

【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，建议冻融次数不要超过3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.
RAS082-C02	SARS-CoV-2 Spike RBD (B.1.1.529)	10 µg	100 µg/mL	100 µL
RAS082-C03	HRP-Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD Antibody	20 µg	100 µg/mL	200 µL

【检测流程】

1. 工作液配制

1.1 配制1×Washing Buffer:

取50 mL 10×Washing Buffer，用超纯水/去离子水稀释并定容至500 mL。

1.2 配制HRP-Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD Antibody工作液:

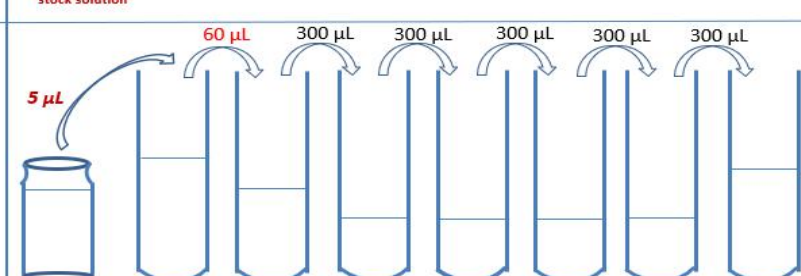
用Dilution Buffer将HRP-Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD Antibody进行100倍稀释。

注：该工作液需用现配，避光待用。

2. 配制标准曲线

复溶标准品(RAS082-C02)后的储存液为 **100 µg/mL**。如图，取 5 µL 的标准品储存液加入到 795 µL 的 Dilution Buffer 中，配制为 Std.-0(625ng/mL)。然后取 60 µL Std.-0 加入到 540 µL 的 Dilution Buffer 中，作为标准曲线的最高浓度 Std.-1(62.5 ng/mL)。在每个试管中加入 300 µL Dilution Buffer，使用高浓度标准品做 1:1 系列稀释。标准曲线的零浓度点是 Dilution Buffer。

注：每次稀释需将液体充分混匀。

Tubes/ Solution Code	SARS-CoV-2 Spike RBD (8.1.1.529) stock solution	Std.-0	Std.-1	Std.-2	Std.-3	Std.-4	Std.-5	Std.-6
Operating								
Solution Con.	100µg/mL	625 ng/mL	62.5 ng/mL	31.25 ng/mL	15.63 ng/mL	7.81 ng/mL	3.91 ng/mL	1.95 ng/mL
Dilution Buffer Vol.		795ul	540ul	300 µL	300 µL	300 µL	300 µL	300 µL

3. 加样

每孔加入 100 µL 系列稀释后的标准品(Std.-1~Std-6)和待测样品。加入 100 µL Dilution Buffer 作空白对照孔。

注：待测样品和标准曲线建议设置复孔。

4. 孵育

用封板膜封板，放置 37°C 恒温培养箱孵育 1.0 h。

5. 洗板

小心揭开封板膜。弃去孔中液体，每孔加入 300 µL 1×Washing Buffer，浸泡 30 s，共洗板 3 次。

最后一次洗板后将微孔板拍干。

6. 加 HRP-Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD Antibody

在对应板孔内加入 100 μ L 稀释后的 **HRP-Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD Antibody** 工作液。依次重复操作步骤 4 孵育及步骤 5 洗板。

注：该工作液需现用现配。

7. 显色

将微孔板拍干，每孔加入 100 μ L Substrate Solution。用封板膜封板，放置 37°C 恒温培养箱避光孵育 20 min。

8. 终止

每孔加入 50 μ L Stop Solution，轻轻震荡酶标板至混合均匀。

注：孔中液体由蓝色变为黄色。

9. 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 3 分钟内读数。

注：各孔 OD_{450 nm} 扣除 OD_{630 nm} 读值可降低背景干扰。

【结果分析】

1. 标准曲线 R² 应大于 0.9900。
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。利用直线拟合或四参数拟合进行绘制

标准曲线并进行样品浓度的计算。

【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. 不同批号的试剂不能混用。不可与其他厂家试剂混用。
4. 使用前各组份需平衡至室温，保证溶液晶体全部溶解。请在无尘洁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。
6. 请根据实验需要配制各组份工作液，除 1xWashing Buffer 以外，工作液即配即用，不可保存。

【TYPICAL DATA】

注: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。

SARS-Cov-2 Spike RBD (B.1.1.529) (ng/mL)	OD _{450-630 nm} -Blank
62.5	1.340
31.25	0.755
15.63	0.399
7.81	0.145
3.91	0.057
1.95	0.025

