

新型冠状病毒(B.1.617.2) RBD蛋白特异性定量检测试剂盒(疫苗开发)

(酶联免疫分析法)

【产品名称】

新型冠状病毒(B.1.617.2) RBD蛋白特异性定量检测试剂盒(疫苗开发)

【规格】

96 Tests

【货号】

RAS-A092

【预期用途】

本试剂盒用于特异性新型冠状病毒(B.1.617.2) RBD蛋白定量检测。

【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.1.617.2) Antibody，样本中的SARS-CoV-2 Spike RBD (B.1.617.2)与微孔板上固定的Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD (B.1.617.2) 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（ $OD_{450\text{ nm}}$ 、 $OD_{630\text{ nm}}$ ）， $OD_{450\text{ nm}} - OD_{630\text{ nm}}$ 与样本中的新型冠状病毒(B.1.617.2)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 |
| RAS092-C01 | Pre-coated Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD (B.1.617.2) Antibody Microplate | 1 plate | 固体 | 2-8°C | 2-8°C |
| RAS092-C02 | SARS-CoV-2 Spike RBD (B.1.617.2) | 15 µg | 冻干粉 | 2-8°C | -70°C |
| RAS092-C03 | HRP-Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD Antibody | 20 µg | 冻干粉 | 2-8°C, 避光 | -70°C, 避光 |
| RAS092-C04 | 10xWashing Buffer | 50 mL | 液体 | 2-8°C | 2-8°C |
| RAS092-C05 | Dilution Buffer | 50 mL | 液体 | 2-8°C | 2-8°C |
| RAS092-C06 | Substrate Solution | 12 mL | 液体 | 2-8°C, 避光 | 2-8°C, 避光 |
| RAS092-C07 | Stop Solution | 7 mL | 液体 | 2-8°C | 2-8°C |

【运输和储存条件】

1. 未开封：试剂盒保存于2-8°C，有效期见外包装标签。
2. 已开封：试剂盒开封后各组分按照表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，建议分装规格不低于5 µg，冻融次数不要超过1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，建议分装规格不低于5 µg，冻融次数不要超过1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. |
|------------|--|-----------|-----------|-----------|
| RAS092-C02 | SARS-CoV-2 Spike RBD (B.1.617.2) | 15 µg | 100 ug/mL | 150 µL |
| RAS092-C03 | HRP-Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD Antibody | 20 µg | 100 ug/mL | 200 µL |

【检测流程】

1. 工作液配制

1.1 配制1×Washing Buffer:

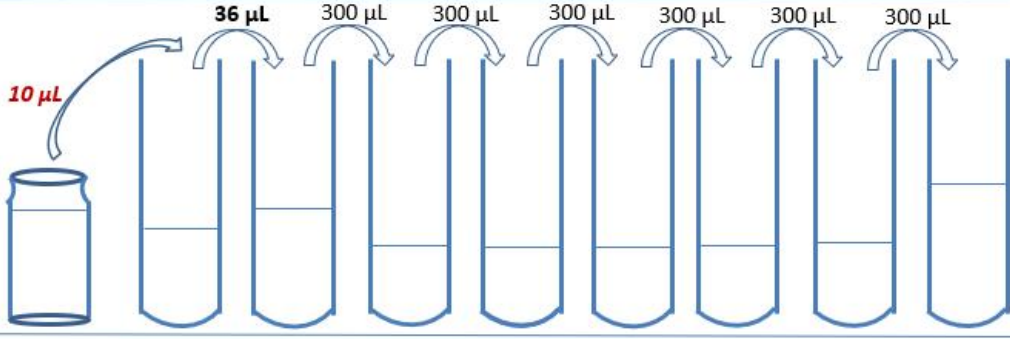
取50 mL 10×Washing Buffer，用超纯水/去离子水稀释并定容至500 mL。

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稀释至1.0 µg/mL，该工作液需避光保存，需现用现配。

2. 制备标准曲线

复溶后标准品(RAS092-C02)的浓度为 **100 µg/mL**，取 10 µL 的标准品储存液，加入 490 µL 的稀释液，作为 Std.-0，然后取 Std.-0 溶液 36 µL 加入到 564 µL 的稀释液中，作为标准曲线的最高浓度 Std.-1 (120 ng/mL)。在每一个试管中加入 300 µL 稀释液，使用高浓度标准品做 1:1 系列稀释。每次移液时，确保充分混匀。以稀释液作为标准曲线的零浓度。

| Tubes/ Solution Code | SARS-CoV-2 Spike RBD (B.1.617.2) stock solution | Std.-0 | Std.-1 | Std.-2 | Std.-3 | Std.-4 | Std.-5 | Std.-6 | Std.-7 |
|----------------------------|---|---------------|--------------|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| Operating |  | 36 µL | 300 µL | 300 µL | 300 µL | 300 µL | 300 µL | 300 µL | 300 µL |
| Solution Con. | 100µg/mL | 2000 ng/mL | 120 ng/mL | 60 ng/mL | 30 ng/mL | 15 ng/mL | 7.5 ng/mL | 3.8 ng/mL | 1.9 ng/mL |
| Dilution Buffer Vol. | | 490 µL | 564 µL | 300 µL | 300 µL | 300 µL | 300 µL | 300 µL | 300 µL |

3. 加样

将待测样品和系列稀释后的标准品加入反应孔内，每孔加入 100 µL，空白对照孔加入 100 µL Dilution Buffer。

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。

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, 该工作液现用现配, 依次重复操作步骤 4 及步骤 5。

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, 检测范围为 1.9-120 ng/mL。
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. 不可与其他厂家试剂混用。本试剂盒不同批号的试剂不能混用。
4. 使用前各组份需平衡至室温，保证溶液晶体全部溶解。请在结净的环境下进行操作使用
5. 试剂盒请在 2-8℃ 保存，请勿使用过有效期的试剂盒。

【TYPICAL DATA】

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。

| Spike RBD (B.1.617.2) (ng/mL) | OD450-630nm | OD450-630nm-Blank |
|----------------------------------|-------------|-------------------|
| 120 | 1.995 | 1.977 |
| 60 | 1.469 | 1.451 |
| 30 | 0.879 | 0.861 |
| 15 | 0.509 | 0.491 |
| 7.5 | 0.241 | 0.223 |
| 3.75 | 0.131 | 0.113 |
| 1.875 | 0.071 | 0.053 |
| Blank | 0.018 | 0.000 |

