

新型冠状病毒(BA.2.12.1)中和抗体滴度检测试剂盒(新冠RBD蛋白)

(酶联免疫分析法)

【产品名称】

新型冠状病毒(BA.2.12.1)中和抗体滴度检测试剂盒(新冠RBD蛋白)

【规格】

96 Tests

【货号】

RAS-N120

【预期用途】

本试剂盒用于检测人血清样本中新型冠状病毒(BA.2)中和抗体(Spike RBD)，适用于抗体定性检测和抗体滴度检测。

【检测原理】

本试剂盒应用竞争ELISA方法。微孔板预包被了Human ACE2 Protein，样本中的新型冠状病毒(BA.2.12.1)中和抗体(Spike RBD)与微孔板上固定的Human ACE2 Protein特异性竞争HRP-SARS-CoV-2 Spike RBD(BA.2)。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630nm处测定样本吸光度值(OD_{450 nm}、OD_{630 nm})。样本OD_{450 nm}-OD_{630 nm}与样本中新型冠状病毒(BA.2.12.1)中和抗体(Spike RBD)的含量呈负相关。

【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 |
| RAS120-C01 | Pre-coated Human ACE2 Microplate | 1 plate | 固体 | 2-8°C | 2-8°C |
| RAS120-C02 | Positive Control | 100 µL | 液体 | 2-8°C | 2-8°C |
| RAS120-C03 | Negative Control | 100 µL | 液体 | 2-8°C | 2-8°C |
| RAS120-C04 | HRP-SARS-CoV-2 Spike RBD(BA.2.12.1) | 50 µg | 冻干粉 | 2-8°C,避光 | -70°C,避光 |
| RAS120-C05 | 10xWashing Buffer | 50 mL | 液体 | 2-8°C | 2-8°C |
| RAS120-C06 | Dilution Buffer | 50 mL | 液体 | 2-8°C | 2-8°C |
| RAS120-C07 | Substrate Solution | 12 mL | 液体 | 2-8°C,避光 | 2-8°C,避光 |
| RAS120-C08 | 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，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。
2. 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。
3. 试剂盒在室温下运输，并已经过验证。如果您需要蓝冰运输，请联系我们，但可能需要额外运费。

注：1. 不要使用过期试剂。

【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

【样本要求】

1. 样本类型：人血清。
2. 样本处理：采血管采集人全血样本后室温静置30 min，3000 g离心5 min，取上清。处理后的血清可用于样本检测。
3. 样本保存：样本如需保存，请将样本分装冻存于-20或-80°C冰箱，避免反复冻融。
4. 检测前样本应至少在室温条件下平衡30 min以上，并混合均匀。

注： a. 样本溶血会影响检测结果，溶血样本不适合本试剂盒的检测。

b. 未对人血浆或全血样本建立检测方法，建议使用者根据需要自行建立检测方法。

【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，将提供的HRP-SARS-CoV-2 Spike RBD(BA.2.12.1)冻干品用超纯水/去离子水稀释为复溶液。冻干品复溶液使用前需在室温下平衡30 min，每隔10 min轻轻震荡摇匀。请勿剧烈摇动或涡旋。冻干品复溶液应在-70°C保存，冻融次数不要超过3次。

表2. HRP-SARS-CoV-2 Spike RBD(BA.2)冻干品复溶液配制方法

| ID | 组份名称 | 规格 (96T) | 复溶液浓度 | 重构水体积 Vol. |
|----|------|----------|-------|------------|
|----|------|----------|-------|------------|

| | | | | |
|------------|-------------------------------------|-------|-----------|--------|
| RAS120-C04 | HRP-SARS-CoV-2 Spike RBD(BA.2.12.1) | 50 µg | 100 µg/mL | 500 µL |
|------------|-------------------------------------|-------|-----------|--------|

【检测流程】

1. 工作液配制

1.1 配制1×Washing Buffer: 取50mL 10×Washing Buffer, 用超纯水/去离子水稀释并定容至500 mL。

1.2 配制HRP- SARS-CoV-2 Spike RBD(BA.2.12.1)工作液:

用Dilution Buffer将HRP-SARS-CoV-2 Spike RBD(BA.2.12.1)冻干品复溶液稀释至3.0 µg/mL, 配制好的工作液需避光保存, 请现配现用。

1.3 配制Positive Control工作液和Negative Control工作液, 样本前处理:

a. **若用于抗体定性检测:** 将待检样本、Positive Control和Negative Control用Dilution Buffer稀释至1:10(待检样本、Positive Control、Negative Control与Dilution Buffer的体积比为1:9, 例如: 10µL的待检样本+90µL的Dilution Buffer)。

b. **若用于抗体滴度检测:** 建议将待检样本、Positive Control和Negative Control用Dilution Buffer从1:10-1:2560进行稀释。

2. 编号

将稀释后的待检样品对应酶标板板孔进行编号, 每次实验需设置一组 Positive Control 工作液和 Negative Control 工作液。

3. 加样

在对应板孔内先加入 50 µL 稀释后的样本、Positive Control 工作液和 Negative Control 工作液, 然后每孔再加入 50 µL HRP-SARS-CoV-2 Spike RBD(BA.2.12.1)工作液, 轻轻震荡混匀。此步骤需连续操作, 切勿间隔时间较长, 以免影响结果。

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 μ L 1 \times 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. 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 $^{\circ}$ C 恒温培养箱避光孵育 20 min。

7. 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。

8. 读数

用酶标仪测定各孔在 450 nm 和 630nm 波长的吸光值，请在终止 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。

【参考值】

1. 临界值（Cut-off）采用统计学方法进行确定，Cut-off=20%。
2. 样本抑制率计算公式：抑制率=(1-样本 OD_{450 nm}-OD_{630 nm}/Negative Control OD_{450 nm}-OD_{630 nm}) \times 100%。

注：建议实验室建立自己的参考范围。

2. 阴性对照质控范围：正常情况下，Negative Control 工作液 OD_{450 nm}-OD_{630 nm}>1.0。
3. 阳性对照质控范围：正常情况下，Positive Control 工作液（1:10 稀释）OD_{450 nm}-OD_{630 nm}<0.2。

【检验结果的解释】

a. 抗体定性检测

1. 阳性判定：样本抑制率 \geq 临界值（Cut-off），判定样本为新型冠状病毒(BA.2.12.1)中和抗体(Spike RBD)阳性。
2. 阴性判定：样本抑制率<临界值（Cut-off），判定样本为新型冠状病毒(BA.2.12.1)中和抗体(Spike RBD)阴性。

b. 抗体滴度检测

抗体滴度的判定：将阳性样本进行梯度稀释，检测样本结果仍判定为阳性时的最大稀释度。

【检测方法的局限性】

本产品仅用于检测人血清样本中新型冠状病毒(BA.2.12.1)中和抗体(Spike RBD)，未对半定量检测方法建立定量限(Limit of Quantitation, LoQ)、检测区间上限(Upper Limit of Measuring Interval, ULMI)和临界值(Cut-off)，如果使用者计划进行半定量检测，建议根据需要自行建立半定量检测方法。

【产品性能】

1. 精密度：批内差 CV%<15%
批间差 CV%<15%
2. 特异性：100%（80 份阴性血清，0 份血清检测为阳性）

【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 10x Washing Buffer 以外，工作液即配即用，不可保存。

【示例数据】

注： 1.示例数据仅供参考，请以实际检测数据为准； 2.不同板间的质控数据不能混用。每次测定均需设置阴性、阳性对照。

a. 抗体定性检测

| 检测结果 | 结果判定 | 检测结果解释 |
|-----------|------|--------------------------------------|
| 样本抑制率=10% | 阴性 | 未检测到新型冠状病毒(BA.2.12.1)中和抗体(Spike RBD) |
| 样本抑制率=29% | 阳性 | 检测到新型冠状病毒(BA.2.12.1)中和抗体(Spike RBD) |

b. 抗体滴度检测

| 稀释倍数 | 样本 OD _{450 nm} -OD _{630 nm} | 抑制率 | Result |
|-------------|---|--------------|------------|
| 10 | 0.062 | 97.9% | 抗体滴度为 1280 |
| 20 | 0.093 | 96.8% | |
| 40 | 0.119 | 96.0% | |
| 80 | 0.238 | 91.9% | |
| 160 | 0.481 | 83.6% | |
| 320 | 0.975 | 66.8% | |
| 640 | 1.694 | 42.4% | |
| 1280 | 2.276 | 22.6% | |
| 2560 | 2.417 | 17.8% | |
| 5120 | 2.482 | 15.5% | |
| 10240 | 2.744 | 6.6% | |
| blank | 2.939 | 0% | |