

腺相关病毒(AAV)衣壳滴度检测抗体对（通用型）

【产品名称】

腺相关病毒(AAV)衣壳滴度检测抗体对（通用型）

【规格】

960tests

【货号】

AAVX-01

【预期用途】

用于检测腺相关病毒AAV1、AAV2、AAV3、AAV5、AAV8衣壳滴度，不能检测AAV9。

【检测原理】

本抗体对可应用于ELISA夹心法。先将AAV Capsid Capture Antibody包被在微孔板上，样本中的AAV Capsid与微孔板上固定的AAV Capsid Capture Antibody结合，然后加入AAV Capsid Detection Antibody，形成抗体-抗原-生物素标记抗体复合物，最后加入HRP-Conjugated Antibody，用底物显色，随后用终止液终止，板孔中溶液由蓝色变为黄色，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值与样本中腺相关病毒含量呈正相关。

【产品组分】

表1.产品组份

ID	组份名称	规格 (960tests)	物理状态	存储条件	
				未开启	已开启

1/5

AAVX01-C01	AAV Capsid Capture Antibody	120 µg	冻干粉	-20°C ~ -70°C	-70°C
AAVX01-C02	AAV Capsid Detection Antibody	60 µg	冻干粉	-20°C ~ -70°C	-70°C
AAVX01-C03	HRP-Conjugated Antibody	15 µg	冻干粉	-20°C ~ -70°C	-70°C

【储存条件及有效期】

未开封：该产品保存于-20°C ~ -70°C，有效期为36个月，有效期见外包装盒标签。

已开封：该产品开封后各组份按照表1存贮条件保存，有效期自开封之日起为90天。

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，分装规格不低于10 µg。

【需要但未提供的关键实验试剂及耗材】

- 96孔酶标板(96 well microplates): Corning 康宁、货号# 42592
- 包被缓冲液(1xCBS): 0.015mol/L Na₂CO₃、0.035mol/L NaHCO₃、0.0077mol/L NaN₃, pH9.59
- 洗涤缓冲液(1xWashing Buffer): 0.05% Tween-20 in TBS, pH7.4
- 封闭缓冲液(Blocking Buffer): 2% BSA in 1xWashing Buffer
- 稀释缓冲液(Dilution Buffer): 0.5% BSA in 1xWashing Buffer
- 显色液(Substrate Solution): InnoReagents 湖州英创、货号# TMB-S-004
- 终止液(Stop Solution): 2N H₂SO₄

注：试剂盒不包含AAV不同血清型，需使用者自行准备。

【试剂准备】

使用前将所有试剂恢复至室温（20°C-25°C），按照表2建议，用超纯水将所提供的冻干品配制成复溶液，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，分装规格不低于10 µg。

表2. 配制方法

ID	组份名称	规格 (960tests)	存储液浓度	重构水体积
----	------	---------------	-------	-------

2/5

AAVX01-C01	AAV Capsid Capture Antibody	120 µg	400 µg/mL	300 µL
AAVX01-C02	AAV Capsid Detection Antibody	60 µg	400 µg/mL	150 µL
AAVX01-C03	HRP-Conjugated Antibody	15 µg	100 µg/mL	150 µL

【检测流程】

1. 包被:

用包被缓冲液(1xCBS)将重构后 AAV Capsid Capture Antibody(AAVX01-C01)稀释至 1.0 µg/mL, 需现用现配, 每孔加入 100 µL, 贴上封板膜, 2-8°C 孵育 16h 或过夜。

2. 洗涤:

小心揭开封板膜, 弃去孔中液体, 每孔加入 300 µL 洗涤缓冲液(1xWashing Buffer), 浸泡 5-10 s, 共洗板 3 次。每次洗板需在吸水纸上轻轻拍干, 也可选择机洗。

3. 封闭:

每孔加入 300 µL 的封闭缓冲液(Blocking Buffer), 37°C 孵育 1.5h。

4. 洗涤:

重复步骤 2。

5. 加样:

每孔加入 100 µL 样品, 空白对照孔加入 100 µL Dilution Buffer。

6. 孵育:

用封板膜封板, 37°C 孵育 1.0 h。

7. 洗板:

重复步骤 2。

8. 加 AAV Capsid Detection Antibody:

用 Dilution Buffer 将重构后的 AAV Capsid Detection Antibody(AAVX01-C02)稀释至 0.5 µg/mL, 在对应板孔内加入 100 µL, 需现用现配。

9. 孵育:

用封板膜封板，37°C孵育 1.0 h。

10. 洗板：

重复步骤 2。

11. 加 HRP-Conjugated Antibody：

用 Dilution Buffer 将 HRP-Conjugated Antibody(AAVX01-C03)稀释至 0.08 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，在对应板孔内加入 100 μL ，该工作液现用现配，避光保存。

12. 孵育：

用封板膜封板，37°C孵育 1.0 h。

13. 洗板：

重复步骤 2。

14. 显色：

每孔加入 100 μL Substrate Solution。用封板膜封板，需避光，37°C孵育 20 min。

15. 终止：

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

注：孔中液体由蓝色完全变为黄色。

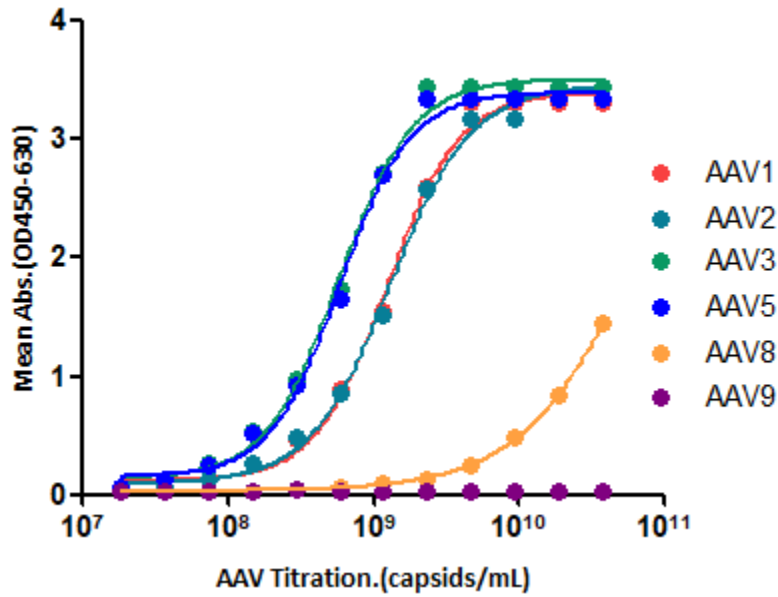
16. 读数：

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 5 分钟内读数。

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

【典型数据】

此数据仅供参考，使用者需根据实际情况自行做方法开发。



Immobilized AAV Capsid Capture Antibody (AAVX01-C01) at 1.0 µg/mL (100 µL/well) can bind AAV Capsid, and then add AAV Capsid Detection Antibody (AAVX01-C02) at 0.5 µg/mL (100 µL/well), final detection was performed using HRP-Conjugated Antibody (AAVX01-C03)。