新型冠状病毒(B.1.1.529) S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) S蛋白特异性检测试剂盒(疫苗开发)

【规格】

96 Tests

【货号】

RAS-A081

【预期用途】

本试剂盒用于新型冠状病毒(B.1.1.529) S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 Trimer (B.1.1.529) Antibody，样本中的SARS-CoV-2 Spike Trimer (B.1.1.529)与微孔板上固定的Anti-SARS-CoV-2 Spike Trimer (B.1.1.529) Antibody结合，然后加入HRP-Anti-SARS-CoV-2 Spike Trimer 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)S蛋白含量呈正相关。

US and Canada: Tel: +1 800-810-0816
Asia and Pacific: Tel: +86 400-682-2521
Web: http://www.acrobiosystems.com
E-mail: order@acrobiosystems.com

【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
RAS081-C01	Pre-coated Anti-SARS-CoV-2 Spike Trimer (B.1.1.529) Antibody Microplate	1 plate	固体	2-8°C	2-8°C
RAS081-C02	SARS-CoV-2 Spike Trimer (B.1.1.529)	10 μg	冻干粉	2-8°C	-70°C
RAS081-C03	HRP-Anti-SARS-CoV-2 Spike Trimer Antibody	20 μg	冻干粉	2-8°C，避光	-70°C，避光
RAS081-C04	10xWashing Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS081-C05	Dilution Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS081-C06	Substrate Solution	12 mL	液体	2-8°C，避光	2-8°C，避光
RAS081-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℃，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：试剂盒开封后各组分按照表1存贮条件保存，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℃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

US and Canada: **Tel**: +1 800-810-0816
Asia and Pacific: **Tel**: +86 400-682-2521
Web: http://www.acrobiosystems.com
E-mail: order@acrobiosystems.com

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℃-25℃)。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℃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℃保存，建议冻融次数不要超过3次。

注：a. 组分RAS081-C02(SARS-CoV-2 Spike Trimer (B.1.1.529))重构后的存储液分装量应不少于3μg/管;

b. 组分RAS081-C03(HRP-Anti-SARS-CoV-2 Spike Trimer Antibody)重构后的存储液分装量应不少于5μg/管。

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.
RAS081-C02	SARS-CoV-2 Spike Trimer (B.1.1.529)	10 μg	100 μg/mL	100 μL
RAS081-C03	HRP-Anti-SARS-CoV-2 Spike Trimer 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 Trimer Antibody工作液：

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

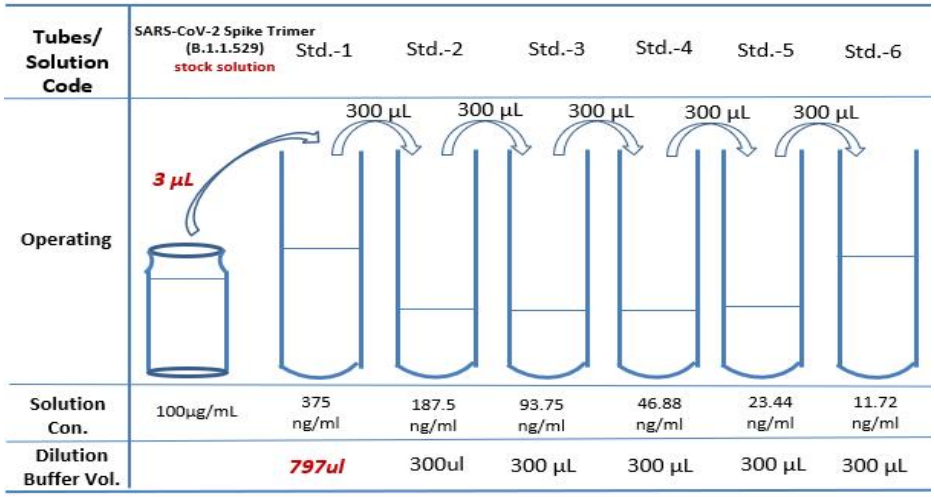
US and Canada: Tel: +1 800-810-0816
Asia and Pacific: Tel: +86 400-682-2521
Web: http://www.acrobiosystems.com
E-mail: order@acrobiosystems.com

注：该工作液需现用现配，避光待用。

2. 配制标准曲线

复溶标准品(RAS081-C02)后的储存液为 **100 μg/mL**。如图，取 3 μL 的标准品储存液加入到 797 μL Dilution Buffer 中，作为标准曲线的最高浓度 Std.-1(375 ng/mL)。在每一个试管中加入 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。



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℃恒温培养箱孵育 1.0 h。

5. 洗板

US and Canada: Tel: +1 800-810-0816
Asia and Pacific: Tel: +86 400-682-2521
Web: http://www.acrobiosystems.com
E-mail: order@acrobiosystems.com

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 Trimer Antibody

在对应板孔内加入 100 μL 稀释后的 **HRP-Anti-SARS-CoV-2 Spike Trimer 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 μL Substrate Solution。用封板膜封板，放置 37℃恒温培养箱避光孵育 20 min。

8. 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 R^2 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

US and Canada: Tel: +1 800-810-0816
Asia and Pacific: Tel: +86 400-682-2521
Web: http://www.acrobiosystems.com
E-mail: order@acrobiosystems.com

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。

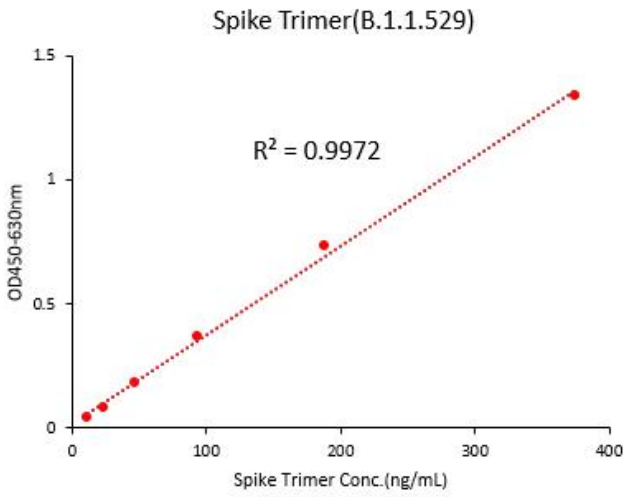
【注意事项】

1. 本产品仅供科研使用，不能用于治疗和诊断。
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℃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分工作液，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 Trimer (B.1.1.529) (ng/mL)	$OD_{450\text{-}630\ nm}$-Blank
375	1.336
187.5	0.734
93.75	0.370
46.88	0.183
23.44	0.086
11.72	0.043



US and Canada: Tel: +1 800-810-0816
Asia and Pacific: Tel: +86 400-682-2521
Web: http://www.acrobiosystems.com
E-mail: order@acrobiosystems.com