

## 新型冠状病毒(BA.4 & BA.5) RBD蛋白定量检测试剂盒

(酶联免疫分析法)

### 【产品名称】

新型冠状病毒(BA.4 & BA.5) RBD蛋白定量检测试剂盒

### 【规格】

96 Tests

### 【货号】

RAS-A117

### 【预期用途】

本试剂盒用于新型冠状病毒(BA.4 & BA.5) 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 Antibody，样本中的SARS-CoV-2 Spike RBD (BA.4 & BA.5)与微孔板上固定的Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD 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(BA.4 & BA.5)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
RAS117-C01	Pre-coated Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD Antibody Microplate	1 plate	固体	2-8°C	2-8°C
RAS117-C02	SARS-CoV-2 Spike RBD (BA.4 & BA.5)	10 µg	冻干粉	2-8°C	-70°C
RAS117-C03	HRP-Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD Antibody	30 µg	冻干粉	2-8°C, 避光	-70°C, 避光
RAS117-C04	10xWashing Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS117-C05	Dilution Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS117-C06	Substrate Solution	12 mL	液体	2-8°C, 避光	2-8°C, 避光
RAS117-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，试剂盒自生产之日起有效期为12个月，有效期见外包装箱标签。
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。

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。

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5µg，冻融次数不要超过2次。

表2. 配制方法

ID	组份名称	规格 (96T)	存储液浓度.	重构水体积Vol.
RAS117-C02	SARS-CoV-2 Spike RBD (BA.4 & BA.5)	10 µg	100 µg/mL	100 µL
RAS117-C03	HRP-Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD Antibody	30 µg	100 µg/mL	300 µL

### 【检测流程】

#### 1. 工作液配制

##### 1.1 配制1×Washing Buffer:

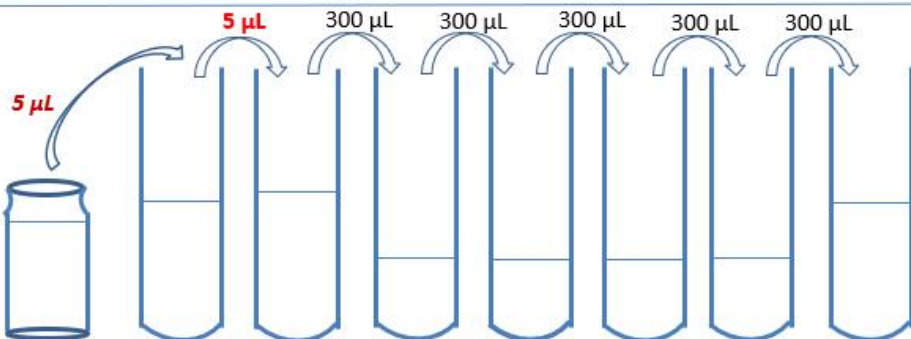
取50 mL 10×Washing Buffer，用超纯水/去离子水稀释并定容至500 mL。

##### 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2.0 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(RAS117-C02)的浓度为 **100 µg/mL**，取 5 µL 的标准品储存液，加入 620 µL 的稀释液，作为 Std.-0。然后取 Std.-0 溶液 5 µL 加入到 635 µL 的稀释液中，作为标准曲线的最高浓度 **Std.-1 (6.25 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 (BA.4&BA.5) stock solution	Std.-0	Std.-1	Std.-2	Std.-3	Std.-4	Std.-5	Std.-6
Operating								
Solution Con.	100µg/mL	800 ng/mL	6.25 ng/mL	3.13 ng/mL	1.56 ng/mL	0.78 ng/mL	0.39 ng/mL	0.20 ng/mL
Dilution Buffer Vol.		620 µL	635 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  $\mu\text{L}$  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. 加 HRP-Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD Antibody

在对应板孔内加入 100  $\mu\text{L}$  稀释后的 HRP-Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD Antibody (稀释至 2.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )工作液，该工作液现用现配，依次重复操作步骤 4 孵育及步骤 5 洗板。

## 7. 显色

将微孔板拍干，每孔加入 100  $\mu\text{L}$  Substrate Solution。用封板膜封板，放置 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱避光孵育 20 min。

## 8. 终止

每孔加入 50  $\mu\text{L}$  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  $\text{OD}_{450\text{ nm}}$  扣除  $\text{OD}_{630\text{ nm}}$  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，检测范围为 0.20-6.25 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分工作液，除 1xWashing Buffer 以外，工作液即配即用，不可保存。

### 【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 (BA.4 & BA.5) (ng/mL)	OD450-630nm	OD450-630nm-Blank
6.25	1.595	1.542
3.13	0.897	0.844
1.56	0.559	0.506
0.78	0.239	0.186
0.39	0.137	0.084
0.20	0.083	0.030
Blank	0.053	0.000

