

新型冠状病毒(BA.4 & BA.5) 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(BA.4 & BA.5) RBD蛋白特异性定量检测试剂盒(疫苗开发)

【规格】

96 Tests

【货号】

RAS-A126

【预期用途】

本试剂盒用于新型冠状病毒(BA.4 & BA.5) RBD蛋白特异性定量检测，同时可识别突变株BA.2。

【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Biotin-Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD Antibody，形成抗体-抗原-生物素标记抗体复合物，最后加入Streptavidin-HRP，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_{450 nm}-OD_{630 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
RAS126-C01	Pre-coated Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD Antibody Microplate	1 plate	固体	2-8°C	2-8°C
RAS126-C02	SARS-CoV-2 Spike RBD (BA.4 & BA.5)	15 µg	冻干粉	2-8°C	-70°C
RAS126-C03	Biotin-Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD Antibody	200 µL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS126-C04	Streptavidin-HRP	10 µg	冻干粉	2-8°C, 避光	-70°C, 避光
RAS126-C05	10xWashing Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS126-C06	Dilution Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS126-C07	Substrate Solution	12 mL	液体	2-8°C, 避光	2-8°C, 避光
RAS126-C08	Stop Solution	7 mL	液体	2-8°C	2-8°C

【储存条件及有效期】

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.
RAS126-C02	SARS-CoV-2 Spike RBD (BA.4 & BA.5)	15 µg	100 µg/mL	150 µL
RAS126-C04	Streptavidin-HRP	10 µg	100 µg/mL	100 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Biotin-Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD Antibody工作液:

用Dilution Buffer将Biotin-Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD Antibody进行125倍稀释，需现用









现配。

1.3 配制Streptavidin-HRP工作液:

用Dilution Buffer将Streptavidin-HRP稀释至0.05ug/mL, 该工作液避光保存, 需用现配。

2. 制备标准曲线

复溶后标准品(RAS126-C02)的浓度为 **100 µg/mL**, 取 5 µL 的标准品储存液, 加入 245 µL 的稀释液, 作为 Std.-0(2000 ng/mL), 然后取 Std.-0 溶液 15 µL, 加入 585 µL 的稀释液, 作为标准曲线的最高浓度 Std.-1(50 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	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	2000 ng/mL	50 ng/mL	25 ng/mL	12.5 ng/mL	6.25 ng/mL	3.13 ng/mL	1.56 ng/mL
Dilution Buffer Vol.		245 µL	585 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 μ L 1 \times Washing Buffer，浸泡 30 s，共洗板 3 次。

6. 加 Biotin-Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD Antibody

在对应板孔内加入 100 μ L 的 **Biotin-Anti-SARS-CoV-2 Spike RBD Antibody(1:125 稀释)**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. 加 Streptavidin-HRP

在对应板孔内加入 100 μ L 的 **Streptavidin-HRP (0.05ug/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。

8. 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。

9. 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。

10. 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 1.56-50 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份工作液，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
50	1.755	1.737
25	0.868	0.850
12.5	0.392	0.374
6.25	0.200	0.182
3.125	0.122	0.104
1.5625	0.059	0.041
Blank	0.018	0.000

