

人呼吸道合胞病毒Pre-F蛋白(site Ø)特异性定量检测试剂盒(ELISA)

【产品名称】

人呼吸道合胞病毒Pre-F蛋白(site Ø)特异性定量检测试剂盒(ELISA)

【规格】

96 Tests

【货号】

RAS-A176

【预期用途】

本试剂盒特异性识别HRSV(A)和HRSV(B)融合前糖蛋白F0，可用于人呼吸道合胞病毒Pre-F蛋白(site Ø)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-Pre-Fusion glycoprotein F0(site Ø) Antibody，样本中的Pre-Fusion glycoprotein F0 (RSV)与微孔板上固定的Anti-Pre-Fusion glycoprotein F0(site Ø) Antibody结合，然后加入HRP-Anti-Fusion glycoprotein F0 (RSV) Antibody，形成抗体-抗原-标记抗体复合物，最后加入底物显色，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}与样本中的人呼吸道合胞病毒Pre-F蛋白(site Ø)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

RAS176-C01	Pre-coated Anti-Pre-Fusion glycoprotein F0(site Ø) Antibody Microplate	1 plate	固体	2-8°C	2-8°C
RAS176-C02	Pre-Fusion glycoprotein F0 (RSV) Standard	20 µg	冻干粉	2-8°C	-70°C
RAS176-C03	HRP-Anti-Fusion glycoprotein F0 (RSV) Antibody	20 µg	冻干粉	2-8°C, 避光	-70°C, 避光
RAS176-C04	10×Washing Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS176-C05	2×Dilution Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS176-C06	Substrate Solution	12 mL	液体	2-8°C, 避光	2-8°C, 避光
RAS176-C07	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，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15-30 min，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.
RAS176-C02	Pre-Fusion glycoprotein F0 (RSV) Standard	20 µg	200 µg/mL	100 µL
RAS176-C03	HRP-Anti-Fusion glycoprotein F0 (RSV) Antibody	20 µg	200 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1×Dilution Buffer:

取50 mL 2×Dilution Buffer，用1×Washing Buffer稀释并定容至100 mL。

1.3 配制HRP-Anti-Fusion glycoprotein F0 (RSV) Antibody工作液:

用1×Dilution Buffer将HRP-Anti-Fusion glycoprotein F0 (RSV) Antibody存储液稀释至0.2 µg/mL，需避光保存，现用现配。

2. 制备标准曲线

复溶后标准品(RAS176-C02)的浓度为 **200 µg/mL**，取 10 µL 的标准品储存液，加入 490 µL 的稀释液，作为 Std.-0(4000 ng/mL)，然后取 Std.-0 溶液 10 µL，加入到 490 µL 的稀释液中，作为 Std.-1' (80 ng/mL)，最后取 Std.-1' 溶液 30 µL，加入到 570 µL 的稀释液中，作为标准曲线的最高浓度 **Std.-1(4 ng/mL)**。在后续每一个离心管中加入 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	Standard stock solution	Std.-0	Std.-1'	Std.-1	Std.-2	Std.-3	Std.-4	Std.-5	Std.-6
Operating									
Solution Con.	200µg/mL	4000 ng/mL	80 ng/mL	4 ng/mL	2 ng/mL	1 ng/mL	0.5 ng/mL	0.25 ng/mL	0.125 ng/mL
Dilution Buffer Vol.		490 µL	490 µL	570 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 1×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，室温孵育 1.0 h。

5. 洗板

小心揭开封板膜。弃去孔中液体，每孔加入 300 µL 1×Washing Buffer，浸泡 30 s，共洗板 3 次。

6. 加 HRP-Anti-Fusion glycoprotein F0 (RSV) Antibody

在对应板孔内加入 100 µL 的 HRP-Anti-Fusion glycoprotein F0 (RSV) Antibody(稀释至 0.2 µg/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 µL Substrate Solution。用封板膜封板，室温避光孵育 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 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 R² 应大于 0.9900，检测范围为 0.125-4 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。利用四参数拟合进行绘制标准曲线并进行样品浓度的计算。若使用直线拟合，需选取合适的作图区间绘制标准曲线，以保证浓度计算的准确性。

【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. 不可与其他厂家试剂混用。本试剂盒不同批号的试剂不能混用。
4. 使用前各组份需平衡至室温，保证溶液晶体全部溶解。请在结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。

【示例数据】

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。

Pre-Fusion glycoprotein F0 (RSV) Standard(ng/mL)	OD450-630nm	OD450-630nm-Blank
4	2.075	2.045
2	1.058	1.028
1	0.537	0.507
0.5	0.282	0.252
0.25	0.146	0.116
0.125	0.087	0.057
Blank	0.030	0.000

