

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

### 【规格】

96 Tests

### 【货号】

RAS-A178

### 【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，可于人呼吸道合胞病毒Pre-F蛋白(site V)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-RSV-Pre-Fusion glycoprotein F0 (site V) Antibody，样本中的Pre-Fusion glycoprotein F0 (site V)与微孔板上固定的Anti-RSV-Pre-Fusion glycoprotein F0 (site V) 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<sub>450 nm</sub>、OD<sub>630 nm</sub>），OD<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub>与样本中的人呼吸道合胞病毒Pre-F蛋白(site V)含量呈正相关。

### 【产品组份】

表1.产品组份

| ID         | 组份名称  | 规格<br>(96 T) | 物理<br>状态 | 存储条件  |       |
|------------|---|--------------|----------|-------|-------|
|            |   |              |          | 未开启   | 已开启   |
| RAS178-C01 | Pre-coated Anti-RSV-Pre-Fusion glycoprotein F0 (site V) | 1 plate      | 固体       | 2-8°C | 2-8°C |

1 / 5

|            | Antibody Microplate                            |       |     |           |           |
|------------|--|-------|-----|-----------|-----------|
| RAS178-C02 | Pre-Fusion glycoprotein F0 (RSV) Standard      | 20 µg | 冻干粉 | 2-8°C     | -70°C     |
| RAS178-C03 | HRP-Anti-Fusion glycoprotein F0 (RSV) Antibody | 20 µg | 冻干粉 | 2-8°C, 避光 | -70°C, 避光 |
| RAS178-C04 | 10×Washing Buffer                              | 50 mL | 液体  | 2-8°C     | 2-8°C     |
| RAS178-C05 | 2×Dilution Buffer                              | 50 mL | 液体  | 2-8°C     | 2-8°C     |
| RAS178-C06 | Substrate Solution                             | 12 mL | 液体  | 2-8°C, 避光 | 2-8°C, 避光 |
| RAS178-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. |
|------------|--|-----------|-----------|-----------|
| RAS178-C02 | Pre-Fusion glycoprotein F0 (RSV) Standard      | 20 µg     | 200 µg/mL | 100 µL    |
| RAS178-C03 | HRP-Anti-Fusion glycoprotein F0 (RSV) 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 1×Dilution Buffer:

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

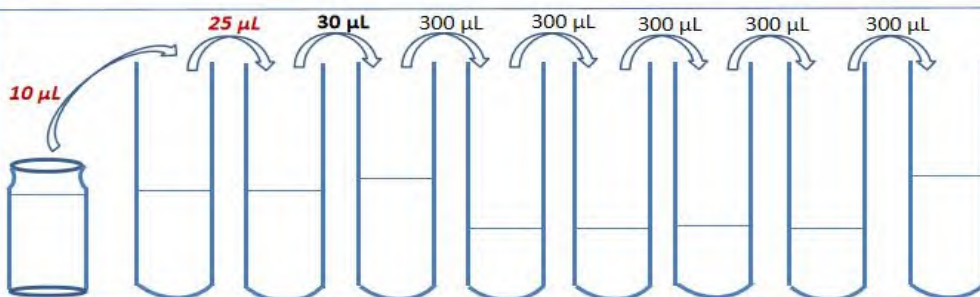
#### 1.3 配制 HRP-Anti-Fusion glycoprotein F0 (RSV) Antibody 工作液:

用1×Dilution Buffer将HRP-Anti-Fusion glycoprotein F0 (RSV) Antibody存储液稀释至0.05 µg/mL，需避光保存，现用现配。

### 2. 制备标准曲线

复溶后标准品(RAS178-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25 µL，加入到475 µL的稀释液中，作为Std.-1' (200

ng/mL), 最后取Std.-1' 溶液30  $\mu$ L, 加入到570  $\mu$ L的稀释液中, 作为标准曲线的最高浓度Std.-1(10 ng/mL)。在后续每一个离心管中加入300  $\mu$ L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/<br>Solution<br>Code | Standard<br>stock solution   | Std.-0        | Std.-1'      | Std.-1      | Std.-2      | Std.-3       | Std.-4        | Std.-5         | Std.-6         |
|----------------------------|--|---------------|--------------|-------------|-------------|--------------|---------------|----------------|----------------|
| Operating                  |  | 25 $\mu$ L    | 30 $\mu$ L   | 300 $\mu$ L | 300 $\mu$ L | 300 $\mu$ L  | 300 $\mu$ L   | 300 $\mu$ L    | 300 $\mu$ L    |
| Solution<br>Con.           | 200 $\mu$ g/mL   | 4000<br>ng/mL | 200<br>ng/mL | 10<br>ng/mL | 5<br>ng/mL  | 2.5<br>ng/mL | 1.25<br>ng/mL | 0.625<br>ng/mL | 0.313<br>ng/mL |
| Dilution<br>Buffer Vol.    |  | 490 $\mu$ L   | 475 $\mu$ L  | 570 $\mu$ L | 300 $\mu$ L | 300 $\mu$ L  | 300 $\mu$ L   | 300 $\mu$ L    | 300 $\mu$ L    |

### 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  $\mu$ L, 空白对照孔加入100  $\mu$ L 1 $\times$ 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, 37 $^{\circ}$ C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  $\mu$ L 1 $\times$ Washing Buffer, 浸泡30 s, 共洗板3次。每次洗板后, 需在吸水纸上拍干。

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

在对应板孔内加入100  $\mu$ L的HRP-Anti-Fusion glycoprotein F0 (RSV) Antibody(稀释至0.05  $\mu$ g/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  $\mu$ L Substrate Solution。用封板膜封板, 37 $^{\circ}$ C避光孵育20 min。

## 8. 终止

每孔加入50  $\mu$ 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 5 分钟内读数。

注:各孔OD<sub>450 nm</sub>扣除OD<sub>630 nm</sub>读值可降低背景干扰。

## 【结果分析】

1. 标准曲线R<sup>2</sup>应大于0.9900，检测范围为0.313-10 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 $^{\circ}$ C保存，请勿使用过有效期的试剂盒。

## 【典型数据】

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 |
|--|-------------|-------------------|
| 10   | 1.998       | 1.988             |
| 5  | 0.969       | 0.958             |
| 2.5  | 0.457       | 0.446             |
| 1.25   | 0.215       | 0.204             |
| 0.625  | 0.112       | 0.102             |
| 0.313  | 0.059       | 0.049             |
| Blank  | 0.011       | 0.000             |

