

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

### 【产品名称】

人呼吸道合胞病毒F蛋白(site I)特异性定量检测试剂盒(ELISA)

### 【规格】

96 Tests

### 【货号】

RAS-A183

### 【预期用途】

本试剂盒特异性识别HRSV(A)和HRSV(B)融合糖蛋白F0，可用于人呼吸道合胞病毒F蛋白(site I)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-Fusion glycoprotein F0 (site I) Antibody，样本中的Fusion glycoprotein F0 (site I)与微孔板上固定的Anti-RSV-Fusion glycoprotein F0 (site I) Antibody结合，然后加入Biotin-Anti-Fusion glycoprotein F0 (RSV) 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<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F蛋白(site I)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

RAS183-C01	Pre-coated Anti-RSV-Fusion glycoprotein F0 (site I) Antibody Microplate	1 plate	固体	2-8°C	2-8°C
RAS183-C02	Pre-Fusion glycoprotein F0 (RSV) Standard	20 µg	冻干粉	2-8°C	-70°C
RAS183-C03	Biotin-Anti-Fusion glycoprotein F0 (RSV) Antibody	20 µg	冻干粉	2-8°C	-70°C
RAS183-C04	Streptavidin-HRP	10 µg	冻干粉	2-8°C, 避光	-70°C, 避光
RAS183-C05	10×Washing Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS183-C06	2×Dilution Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS183-C07	Substrate Solution	12 mL	液体	2-8°C, 避光	2-8°C, 避光
RAS183-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，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°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.
RAS183-C02	Pre-Fusion glycoprotein F0 (RSV) Standard	20 µg	200 µg/mL	100 µL
RAS183-C03	Biotin-Anti-Fusion glycoprotein F0 (RSV) Antibody	20 µg	100 µg/mL	200 µL
RAS183-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Biotin-Anti-Fusion glycoprotein F0 (RSV) Antibody工作液:









用1×Dilution Buffer将Biotin-Anti-Fusion glycoprotein F0 (RSV) Antibody存储液稀释至0.1 µg/mL，现用现配。

#### 1.4 配制Streptavidin-HRP工作液:

用1×Dilution Buffer将Streptavidin-HRP存储液稀释至0.05 µg/mL，该工作液避光保存，需现用现配。

### 2. 制备标准曲线

复溶后标准品(RAS183-C02)的浓度为**200 µg/mL**，取10 µL的标准品储存液，加入990 µL的稀释液，作为Std.-0(2000 ng/mL)，然后取Std.-0溶液10 µL，加入到790 µL的稀释液中，作为标准曲线的最高浓度**Std.-1(25 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.-2	Std.-3	Std.-4	Std.-5	Std.-6
Operating								
Solution Con.	200µg/mL	2000 ng/mL	25 ng/mL	12.5 ng/mL	6.25 ng/mL	3.125 ng/mL	1.563 ng/mL	0.781 ng/mL
Dilution Buffer Vol.		<b>990 µL</b>	<b>790 µL</b>	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，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 µL 1×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 Biotin-Anti-Fusion glycoprotein F0 (RSV) Antibody

在对应板孔内加入 100 µL 的 **Biotin-Anti-Fusion glycoprotein F0 (RSV) Antibody**(稀释至 **0.1 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. 加 Streptavidin-HRP

在对应板孔内加入 100  $\mu\text{L}$  的 **Streptavidin-HRP (稀释至 0.05  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )**, 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  $\mu\text{L}$  Substrate Solution。用封板膜封板, 37°C恒温培养箱避光孵育 20 min。

## 9. 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。

## 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 $\text{OD}_{450\text{ nm}}$ 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0.781-25 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。

## 【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
25	2.004	1.940
12.5	0.952	0.888
6.25	0.482	0.418
3.125	0.237	0.173
1.563	0.147	0.084
0.781	0.104	0.040
Blank	0.064	0.000

