

## 新型冠状病毒(BA.4 & BA.5)中和抗体滴度检测试剂盒(新冠RBD蛋白) (酶联免疫分析法)

### 【产品名称】

新型冠状病毒(BA.4 & BA.5)中和抗体滴度检测试剂盒(新冠RBD蛋白)

### 【规格】

96 Tests

### 【货号】

RAS-N107

### 【预期用途】

本试剂盒用于检测人血清样本中新型冠状病毒(BA.4 & BA.5)中和抗体(Spike RBD)，适用于抗体定性检测和抗体滴度检测。

### 【检测原理】

本试剂盒应用竞争ELISA方法。微孔板预包被了Human ACE2 Protein，样本中的新型冠状病毒(BA.4 & BA.5)中和抗体(Spike RBD)与微孔板上固定的Human ACE2 Protein特异性竞争HRP-SARS-CoV-2 Spike RBD(BA.4 & BA.5)。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处测定样本吸光度值（OD<sub>450 nm</sub>、OD<sub>630 nm</sub>）。样本OD<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub>与样本中新型冠状病毒(BA.4 & BA.5)中和抗体(Spike RBD)的含量呈负相关。

### 【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   |
| RAS107-C01 | Pre-coated Human ACE2 Microplate | 1 plate   | 固体   | 2-8°C | 2-8°C |

|            |  |             |     |                     |                     |
|------------|--|-------------|-----|---------------------|---------------------|
| RAS107-C02 | SARS-CoV-2 Antibody Positive Control   | 100 $\mu$ L | 液体  | 2-8 $^{\circ}$ C    | 2-8 $^{\circ}$ C    |
| RAS107-C03 | SARS-CoV-2 Antibody Negative Control   | 100 $\mu$ L | 液体  | 2-8 $^{\circ}$ C    | 2-8 $^{\circ}$ C    |
| RAS107-C04 | HRP-SARS-CoV-2 Spike RBD (BA.4 & BA.5) | 15 $\mu$ g  | 冻干粉 | 2-8 $^{\circ}$ C,避光 | -70 $^{\circ}$ C,避光 |
| RAS107-C05 | 10 $\times$ Washing Buffer             | 50 mL       | 液体  | 2-8 $^{\circ}$ C    | 2-8 $^{\circ}$ C    |
| RAS107-C06 | Dilution Buffer                        | 50 mL       | 液体  | 2-8 $^{\circ}$ C    | 2-8 $^{\circ}$ C    |
| RAS107-C07 | Substrate Solution                     | 12 mL       | 液体  | 2-8 $^{\circ}$ C,避光 | 2-8 $^{\circ}$ C,避光 |
| RAS107-C08 | Stop Solution                          | 7 mL        | 液体  | 2-8 $^{\circ}$ C    | 2-8 $^{\circ}$ C    |

### 【运输和储存条件】

1. 未开封：试剂盒保存于2-8 $^{\circ}$ 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。
3. 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：不要使用过期试剂。

### 【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  $\mu$ L、300  $\mu$ L、1000  $\mu$ L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，将提供的HRP-SARS-CoV-2 Spike RBD (BA.4 & BA.5)冻干品用超纯水/去离子水稀释为复溶液。冻干品复溶液使用前需在室温下平衡30 min，每隔10 min轻轻震荡摇匀。请勿剧烈摇动或涡旋。冻干品复溶液应在-70°C保存，冻融次数不要超过3次。

表2. HRP-SARS-CoV-2 Spike RBD(BA.4&BA.5)冻干品复溶液配制方法

| ID         | 组份名称                                   | 规格 (96T) | 复溶液浓度     | 重构水体积 Vol. |
|------------|--|----------|-----------|------------|
| RAS107-C04 | HRP-SARS-CoV-2 Spike RBD (BA.4 & BA.5) | 15 µg    | 100 µg/mL | 150 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500 mL。

**1.2 配制HRP- SARS-CoV-2 Spike RBD(BA.4 & BA.5)工作液:**

用Dilution Buffer将HRP-SARS-CoV-2 Spike RBD(BA.4 & BA.5)冻干品复溶液稀释至1.0 µg/mL，配制好的工作液需避光保存，请现配现用。

**1.3 配制Positive Control工作液和Negative Control工作液，样本前处理:**

a. **若用于抗体定性检测:** 将待检样本、Positive Control和Negative Control用Dilution Buffer稀释至1:10(待检样本、Positive Control、Negative Control与Dilution Buffer的体积比为1:9，例如：10µL的待检样本 + 90µL的Dilution Buffer)。

b. **若用于抗体滴度检测:** 建议将待检样本、Positive Control和Negative Control用Dilution Buffer从1:10-1:1280进行稀释。

### 2. 编号

将稀释后的待检样品对应酶标板板孔进行编号，每次实验需设置一组Positive Control工作液和Negative Control工作液。

### 3. 加样

在对应板孔内先加入50 µL稀释后的样本、Positive Control工作液和Negative Control工作液

液，然后每孔再加入50  $\mu$ L HRP-SARS-CoV-2 Spike RBD(BA.4 & BA.5)工作液，轻轻震荡混匀。此步骤需连续操作，切勿间隔时间较长，以免影响结果。

#### 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  $\mu$ L 1 $\times$ Washing Buffer，浸泡30 s。共洗板3次。

#### 6. 显色

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

#### 7. 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。

#### 8. 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 3 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。

### 【参考值】

1. 临界值（Cut-off）采用统计学方法进行确定，Cut-off =20%。
2. 样本抑制率计算公式：抑制率=(1-样本OD<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub>/Negative Control OD<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub>)  
 $\times 100\%$ 。

注：建议实验室建立自己的参考范围。

3. 阴性对照质控范围：正常情况下，Negative Control工作液 OD<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub> > 1.0。
4. 阳性对照质控范围：正常情况下，Positive Control工作液（1:10稀释）OD<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub> < 0.2。

### 【检验结果的解释】

### a. 抗体定性检测

1. 阳性判定：样本抑制率 $\geq$ 临界值（Cut-off），判定样本为新型冠状病毒(BA.4 & BA.5)中和抗体(Spike RBD)阳性。
2. 阴性判定：样本抑制率 $<$ 临界值（Cut-off），判定样本为新型冠状病毒(BA.4 & BA.5)中和抗体(Spike RBD)阴性。

### b. 抗体滴度检测

抗体滴度的判定：将阳性样本进行梯度稀释，检测样本结果仍判定为阳性时的最大稀释度。

## 【检测方法的局限性】

本产品仅用于检测人血清样本中新型冠状病毒(BA.4 & BA.5)中和抗体(Spike RBD)，未对半定量检测方法建立定量限（Limit of Quantitation, LoQ）、检测区间上限（Upper Limit of Measuring Interval, ULMI）和临界值（Cut-off），如果使用者计划进行半定量检测，建议根据需要自行建立半定量检测方法。

## 【产品性能】

1. 精密度：批内差 CV% $<$ 15%  
批间差 CV% $<$ 15%
2. 特异性：100%（80 份阴性血清，0 份血清检测为阳性）

## 【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，工作液即配即用，不可保存。