

## 小鼠狂犬病病毒核蛋白IgG抗体滴度检测试剂盒(ELISA)

### 【产品名称】

小鼠狂犬病病毒核蛋白IgG抗体滴度检测试剂盒(ELISA)

### 【货号】

RAS-T179

### 【规格】

96 Tests

### 【预期用途】

本试剂盒用于检测小鼠血清样本中狂犬病毒核蛋白IgG抗体，适用于抗体定性和滴度检测。

### 【检测原理】

本试剂盒采用间接ELISA方法，将RABV Nucleoprotein固定于酶标板上，加入待检测样本，孵育结束后加入辣根过氧化物酶（HRP）标记的抗体，形成抗原-抗体-酶标记抗体复合物。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>的响应值与样本中狂犬病毒核蛋白IgG抗体的含量呈正相关。

### 【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
RAS179-C01	Pre-coated RABV Nucleoprotein Microplate	1 plate	固体	2-8°C	2-8°C
RAS179-C02	RABV-N Antibody Positive Control	50 µL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS179-C03	RABV-N Antibody Negative Control	50 µL	液体	2-8°C	2-8°C

RAS179-C04	HRP-Conjugated Antibody	50 $\mu$ L	液体	2-8 $^{\circ}$ C, 避光	2-8 $^{\circ}$ C, 避光
RAS179-C05	10 $\times$ Washing Buffer	50 mL	液体	2-8 $^{\circ}$ C	2-8 $^{\circ}$ C
RAS179-C06	Dilution Buffer	50 mL	液体	2-8 $^{\circ}$ C	2-8 $^{\circ}$ C
RAS179-C07	Substrate Solution	12 mL	液体	2-8 $^{\circ}$ C, 避光	2-8 $^{\circ}$ C, 避光
RAS179-C08	Stop Solution	7 mL	液体	2-8 $^{\circ}$ C	2-8 $^{\circ}$ C

## 【保存条件】

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. 试剂盒保存于2-8 $^{\circ}$ C，应在有效期前使用。
3. 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：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】

使用前所有试剂恢复至室温 (20 $^{\circ}$ C-25 $^{\circ}$ C)。如果溶液中有结晶形成，需平衡至室温直至晶体完全溶解。

## 【检测流程】

1. 工作液准备

### 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 RABV-N Antibody Positive Control 工作液和 RABV-N Antibody Negative Control 工作液、待检样本前处理:

a. 若用于抗体定性检测: 将待检样本、RABV-N Antibody Positive Control 和 RABV-N Antibody Negative Control 用 Dilution Buffer 稀释至 1:100。

b. 若用于抗体滴度检测: 建议将待检样本、RABV-N Antibody Positive Control 和 RABV-N Antibody Negative Control 用 Dilution Buffer 从 1:800-1:25600 进行稀释。

### 2. 编号

将稀释后的样本对应酶标板板孔进行编号, 每次实验需设置 RABV-N Antibody Positive Control 工作液、RABV-N Antibody Negative Control 工作液。

### 3. 加样

在对应板孔内先加入 100  $\mu$ L 稀释后的样本、RABV-N Antibody Positive Control 工作液和 RABV-N Antibody Negative Control 工作液。用封板膜封板, 轻轻震荡混匀, 放置 37°C 孵育 1.0 h。此步骤需连续操作, 切勿间隔时间较长, 以免影响结果。

### 4. 洗板

弃去孔中液体, 拍干酶标板, 用 1×Washing Buffer 洗板, 300  $\mu$ L/孔浸泡 30 s, 拍干酶标板, 进行下一次清洗, 共洗板 3 次。

### 5. 加 HRP 酶标物

用 Dilution Buffer 将 HRP-Conjugated Antibody 进行 2000 倍稀释, 每孔加入 100  $\mu$ L, 用封板膜封板, 放置 37°C 孵育 1.0 h。

注: HRP 酶标物需现配现用, 不可保存。

### 6. 洗板

重复步骤 4 洗板 3 次。

### 7. 显色

每孔加入 100  $\mu$ L Substrate Solution, 用封板膜封板, 放置 37°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 OD<sub>450 nm</sub> 和 OD<sub>630 nm</sub> 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)计算：临界值=0.1。
2. 阴性对照质控标准：Negative Control (1:100) OD<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub><0.1。
3. 阳性对照质控标准：Positive Control (1:800) OD<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub>≥1.5。

注：建议各实验室建立自己的参考范围。

## 【检测结果的解释】

1. 抗体阳性判定：OD<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub>≥0.1；
2. 抗体阴性判定：OD<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub><0.1；
3. 抗体滴度判定：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】

本产品仅用于检测小鼠血清样本中狂犬病毒核蛋白 IgG 抗体，不能用于抗体定量检测。

## 【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。

## 【示例数据】

**a. 抗体定性检测**

检测结果	结果判定	检测结果解释
样本 $OD_{450\text{ nm}}-OD_{630\text{ nm}}=0.059$	阴性	未检测到狂犬病毒核蛋白IgG抗体
样本 $OD_{450\text{ nm}}-OD_{630\text{ nm}}=0.427$	阳性	检测到狂犬病毒核蛋白IgG抗体

**b. 抗体滴度检测**

**注：**不同板间的质控数据不能混用。每次测定均需设置阴性、阳性对照。此数据仅供参考。

稀释倍数	样本 $OD_{450\text{ nm}}-OD_{630\text{ nm}}$	结果
100	3.115	<b>抗体滴度为 25600</b>
200	3.016	
400	2.897	
800	2.454	
1600	1.541	
3200	0.803	
6400	0.453	
12800	0.213	
<b>25600</b>	<b>0.136</b>	
51200	0.068	
Blank	0.012	