

新冠病毒 S 蛋白中和抗体 ELISA 半定量检测试剂盒

产品简介：

2019 年底，严重急性呼吸系统综合症冠状病毒 2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 , SARS-CoV-2) 开始肆虐全球，对全人类生命健康造成巨大威胁。该病毒通过刺突蛋白(Spike protein,S)受体结合域(Receptor Binding Domain,RBD) 识别细胞表面受体-血管紧张素转化酶 2 (Angiotensin I Converting Enzyme 2,ACE2) 并与其结合，在相关蛋白协助和介导下感染细胞。

本试剂盒可检测的中和抗体为针对 S 蛋白并且可以阻断其与 ACE2 结合的抗体；本试剂盒可以检测任何物种体液中针对 S 蛋白的中和抗体。

本试剂盒预包被酶标板上通过共价固定 S 蛋白 RBD 片段，其可以与 HRP-ACE2 偶联物特异性结合，然后通过 TMB 在 HRP-ACE2 偶联物的 HRP 酶催化下显色；如果待检测样本或者标准品中含有针对 S 蛋白中和抗体会阻断 HRP-ACE2 偶联物与固定的 RBD 片段的结合，因此中和抗体含量与 TMB 显色值呈负相关。

本试剂盒可检测血清、血浆或其他体液中针对 S 蛋白的中和抗体，不受待检样品种属和抗体亚型的限制。

虽然本试剂盒中标准品为标准浓度，但是由于不同中和抗体亲和力不同，所以参照本试剂盒标准品测算的中和抗体浓度为相对浓度，因此称为半定量。

主要组分：

组分名称	规格	保存条件	数量
预包被酶标板（共价固定 RBD 片段）	96T	-20℃	1
中和抗体标准品(S 蛋白中和抗体),10ug/ml	300ul/支	-20℃	1
阴性对照品(非相关抗体)	30ul/支	-20℃	1
HRP-ACE2 偶联复合物 (100×)	60ul	-20℃	1
通用稀释液	30ml	4℃	1
浓缩洗涤液 (25×)	30ml	4℃	1
TMB 底物液	12ml	4℃	1
底物反应终止液	12ml	4℃	1
酶标板覆膜			5
产品说明书			1

储存方法：

请各个组分对应的温度存储，该试剂盒在各组分未拆封的情况下，自生产之日起可存放 6 个月。

试剂准备：

- 1.从冰箱中取出所有试剂，在使用前平衡至室温（20℃至25℃）。未用完后的所有试剂保存在冰箱中。
- 2.使用前应将所有样品和对照品进行离心。

3. HRP-ACE2 工作液 :将 **HRP-ACE2 偶联复合物 (100×)** 用 **通用稀释液** 按 1 : 100 进行稀释,即为 HRP-ACE2 工作液 ;

4. 洗涤液 :将 **浓缩洗涤液 (25×)** 用 ddH₂O 以体积比 1:24 进行稀释 (稀释 25 倍),即为 洗涤液。

注意:如浓缩洗涤液 (25×) 中有沉淀,请在水浴 (最高 50℃) 中温育、混合至沉淀溶解。

中和抗体标准品、阴性对照品和待检样品的准备:

1. 将 **中和抗体标准品** 用 **通用稀释液** 做连续 2 倍倍比稀释 稀释后 **中和抗体标准品** 浓度依次为 10ug/ml, 5ug/ml, 2.5ug/ml, 1.25ug/ml, 0.625ug/ml, 0.313ug/ml, 0.156ug/ml,
2. **阴性对照品** 用 **通用稀释液** 以体积比 1:9 进行稀释,即稀释 10 倍。
例如, 50μL 样品加入 450μL **通用稀释液**。
3. 将 **待检样品** 用 **通用稀释液** 以体积比 1:9 进行稀释,即稀释 10 倍。
例如, 10μL 测试样品加入 90μL **通用稀释液**。

预包被酶标板准备及加样顺序安排:

1. 设置 **标准品孔**、**阴性对照品孔** 和 **待检样品孔**, 最好做两个平行重复孔, 有条件的可以做三孔平行重复。
 2. 根据 **标准品孔**、**阴性对照品孔** 和 **待检样品孔** 的数量抠取所需酶标板孔条 (有条件的可以考虑样品做三次平行重复)。
- 确保板孔条牢固地卡入板框, 未使用的板孔条及时装入有干燥剂铝箔袋密封-20℃保存。

检测操作步骤:

1. 将稀释好的 **中和抗体标准品**、**阴性对照** 和 **待检测样品**, 依次加入酶标板孔, 每孔 50ul ;
加入 **标准品孔** 的 **标准品** 浓度依次为 : 10ug/ml, 5ug/ml, 2.5ug/ml, 1.25ug/ml, 0.625ug/ml, 0.313ug/ml, 0.156ug/ml, **阴性对照品**
2. 以上每孔中再立即加入 **HRP-ACE2 工作液**, 每孔 50ul, 加完后震荡仪轻轻混匀 ;
3. 用酶标板膜覆封盖板孔, 在 37℃ 下孵育 60 分钟 ;
4. 取下平板密封膜, 用 350μL 的 **洗涤液** 洗涤酶标板孔 3 次 ;
5. 洗涤完毕后在吸水纸上拍干孔内液体 ;
6. 每孔立即加入 100uL **TMB 底物液**, 室温显色 10-15 分钟, 待其显色稳定后立即在每孔加入 50uL **底物反应终止液**

吸光值读取:

提前 10 分钟打开酶标仪, 待其预热稳定后方可使用。

将显色反应终止的酶标板放入酶标仪, 设定好检测波长 450nm (最好设置双波长: 以 450nm 为吸光波长, 630nm 为参考波长) ;

TMB 底物反应时间与温度有关, 比较适宜温度为 25℃ 左右; 温度太低, 反应速度慢, 温度高, 背景较深, 边缘效应严重。

待测样品中和抗体浓度计算:

通过标准品浓度及其对应 OD 值建立标准品曲线, 将待检样品 OD 值代入拟合曲线公式计算待检样品中中和抗体浓度。

1. 可以使用 Curve Expert 绘制标准曲线, 并且通过其拟合曲线公式进行样品浓度计算 ;

武汉安特柏科技有限公司 Wuhan ANTBDY Technology Co.,LTD

咨询热线 Tel: 15377047856

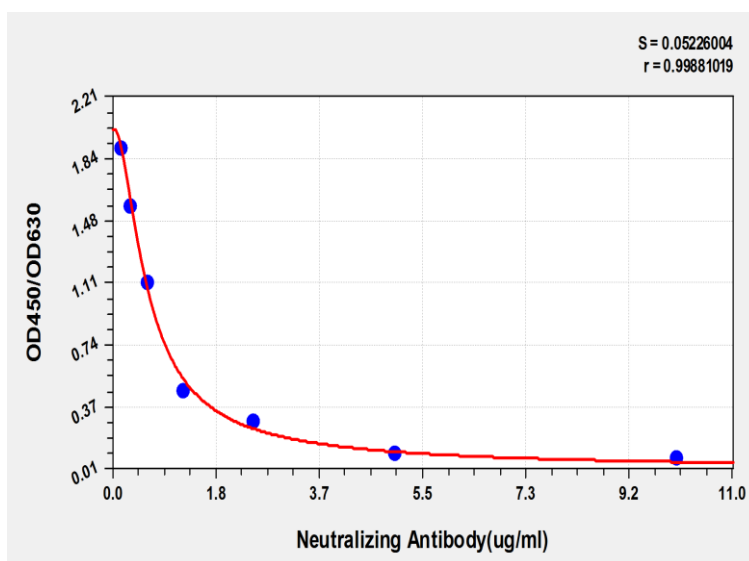
邮箱: tech@antbdy.com

QQ: 657047932

2. 当检测样品 OD 值或者标准品 OD 值高于阴性对照品 OD 值时，应该予以舍弃，不予纳入计算，此可能为样品个体差异所引起的干扰。试剂盒所使用的通用稀释液为标准稀释液，与复杂的体液环境还是有一定差异，所以只有 OD 值低于阴性对照品的 OD 值才纳入计算范围。

典型数据：

中和 抗体 标准 品	10ug/ml	5ug/ml	2.5ug/ml	1.25ug/ml	0.625ug/ml	0.313ug/ml	0.156ug/ml	阴性 对照 品
OD ₄₅₀	0.078	0.102	0.289	0.475	1.110	1.565	1.906	2.015



*本试剂仅供实验室研究使用