

新冠病毒 S 蛋白中和抗体 ELISA 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侵染细胞。

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安特柏采用共价固定手段 S 蛋白 RBD 片段，其可以与 Bio-ACE2 偶联物特异性结合，然后通过 HRP-链霉亲和素与标记生物素结合，最后通过 TMB 在 HRP-链霉亲和素的 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 Bio-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。

安特柏研发的新冠病毒 S 蛋白中和抗体检测试剂盒可检测血清、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。

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
阳性对照品(S 蛋白中和抗体)（100×）	15ul/支	-20℃	1
阴性对照品(非相关抗体)（100×）	15ul/支	-20℃	1
Bio-ACE2 偶联复合物（100×）	60ul	-20℃	1
通用稀释液	30ml	4℃	1
HRP-链霉亲和素（100×）	120ul	-20℃	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 个月以上。

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

4.HRP-链霉亲和素：将 **HRP-链霉亲和素 (100×)** 用 通用稀释液 按 1 : 100 进行稀释，即为 HRP-链霉亲和素工作液；

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。

提示：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。

待测样品和阴阳性对照品准备：

1.将 **阳性对照品** 和 **阴性对照品** 用 通用稀释液 以体积比 1:99 进行稀释，即稀释 100 倍。

例如，5μL 样品加入 495μL 通用稀释液。

2.将待测样品用 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设计：

1.**阳性对照品** 和 **阴性对照品** 做两个平行重复孔，有条件的可以做三孔平行重复。

2.根据待测样品的数量提取所需酶标板孔条 (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、将稀释好的阴性对照品、阳性对照和待测样品，分别加入酶标板孔，每孔 50ul；

2.以上每孔中立即加入 **Bio-ACE2 工作液**，每孔 50ul，加完后震荡仪轻轻混匀；

3.用 **酶标板覆膜** 封盖板孔，在 37℃ 下孵育 60 分钟；

4.取下 **酶标板覆膜**，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.每孔中再立即加入 **HRP-链霉亲和素工作液**，每孔 100ul，加完后震荡仪轻轻混匀；

7.用 **酶标板覆膜** 封盖板孔，在 37℃ 下孵育 60 分钟；

8.取下 **酶标板覆膜**，用 350μL 的 洗涤液 洗涤酶标板孔 3 次；

9.洗涤完毕后在吸水纸上拍干孔内液体；

10.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**

液

吸光值读取：

提前 10 分钟打开酶标仪，让其稳定

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：设置 450nm 吸光波长，630nm 为参考波长)；

提示：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。

试剂盒实验数据有效性判定：

阴性对照孔 OD₄₅₀ (或 OD₄₅₀/OD₆₃₀) > 0.900

阳性对照孔 OD₄₅₀ (或 OD₄₅₀/OD₆₃₀) < 0.300

本试剂盒典型数据：阴性对照孔 OD₄₅₀ (或 OD₄₅₀/OD₆₃₀) = 1.966阳性对照孔 OD₄₅₀ (或 OD₄₅₀/OD₆₃₀) = 0.102**待检测样品中中和抗体检测判定方法：**

用抑制率来判定样本中抗 SARS-CoV-2 中和抗体的水平，公式如下：

$$\text{抑制率}\% = \frac{\text{阴性对照OD}_{450} - \text{待检测样品OD}_{450}}{\text{阴性样品OD}_{450}} \times 100\%$$

判定所参照的标准：

抑制率 ≥ 20% 判断结果为阳性 说明检出 SARS-CoV-2 中和抗体

抑制率 < 20% 判断结果为阴性 说明未检出 SARS-CoV-2 中和抗体

***本试剂仅供实验室研究使用**