

新冠病毒(奥密克戎)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新冠病毒(Omicron)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 HRP-ACE2 偶联物特异性结合，然后通过 TMB 在 HRP-ACE2 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 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。

安特柏研发的新冠病毒(Omicron)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。

为方便行文，以下文中所提到的 S 蛋白皆为新冠病毒 (Omicron) S 蛋白

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
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：

请按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。

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抽取所需酶标板孔条（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，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 OD_{450} (或 OD_{450}/OD_{630}) >0.900

阳性对照孔 OD_{450} (或 OD_{450}/OD_{630}) <0.300

本试剂盒典型数据：

阴性对照孔 OD_{450} (或 OD_{450}/OD_{630}) =1.966

阳性对照孔 OD_{450} (或 OD_{450}/OD_{630}) =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**