

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：

请安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 | 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 $\geq 20\%$ 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**