

新冠病毒 S 蛋白 ELISA 检测试剂盒

【双夹心酶联免疫定量法】

产品货号：BF03087

试剂盒组成：

组分名称	规格	保存条件	数量
ELISA 酶标板(包被抗 S 蛋白抗体)	96T	-20℃	1
标准品(重组新冠病毒 S 蛋白),30ng/ml	1ml	-20℃	2
生物素标记抗新冠蛋白 S 抗体 (100×)	120ul	-20℃	1
链霉亲和素 HRP (100×)	120ul	-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
反应终止液	12ml	4℃	1
酶标板覆膜			5
产品说明书			1

有效期：12 个月

特别说明：

1. 打开包装后请及时检查所有物品是否齐全完整
2. 一周内使用可存于 4℃，需长时间保存或多次使用请按保存条件存放。

检测原理：

本试剂盒为双抗体夹心法检测抗原 S 蛋白，酶标板采用抗 S 蛋白抗体作为包被物，检测时酶标板孔加入待检样品或标准品（重组表达 S 蛋白），再加入生物素化抗 S 蛋白抗体，反应后加入链霉亲和素 HRP，最后加入单组份 TMB 底物液。如待检样品中含有 S 蛋白，TMB 底物液在 HRP 催化下显色，加入终止液终止显色后，在酶标仪 OD₄₅₀/OD₆₃₀ 读取吸光值，吸光值大小与待检测样品中 S 蛋白浓度呈正相关，根据标准品浓度/吸光值绘制的标准曲线，可计算出待检样品中 S 蛋白含量。

注意：结构活性不佳的 S 蛋白可能不容易被本试剂盒检出，例如原核重组表达的 S 蛋白可能无法被试剂盒检出。

试验所需自备物品:

1. 酶标仪 (450nm 波长滤光片)
2. 高精度移液器, EP 管及一次性吸头: 0.5-10 μL , 2-20 μL , 20-200 μL , 200-1000 μL
3. 37°C 恒温箱, 双蒸水或去离子水
4. 吸水纸

检测前准备工作:

1. 请提前 20 分钟从冰箱中取出试剂盒, 平衡至室温。
2. **洗涤液配制:** 将浓缩洗涤液用双蒸水稀释 (1:25)。未用完的放回 4°C。从冰箱中取出的浓缩洗涤液可能有结晶, 属于正常现象, 可用 40°C 水浴微加热使结晶完全溶解后再配制洗涤液 (加热温度不要超过 50°C, 使用时洗涤液应为室温)。当日使用。
3. **标准品配制:** 浓度为 30ng/mL 然后根据需要用 通用稀释液 进行 1:2 倍比稀释 (注: 不要直接在反应孔中进行倍比稀释)。建议配制成以下浓度: 30、15、7.5、3.75、1.875、0.938、0.469、0pg/mL, 标准品&样品稀释液直接作为空白孔 0pg/mL
4. **生物素标记抗 S 蛋白抗体工作液:** 实验前计算当次实验所需用量 (以 100 μL /孔计), 用 通用稀释液稀释 100 倍, 实际配制时应多配制 100-200 μL ;
5. **链霉亲和素 HRP 工作液:** 实验前计算当次实验所需用量 (以 100 μL /孔计), 用 通用稀释液稀释 100 倍, 实际配制时应多配制 100-200 μL ;
6. **TMB 底物液:** 使用前, 提前放置室温平衡

操作步骤:

实验开始前, 各试剂均应平衡至室温; 试剂或样品配制时, 均需充分混匀, 并尽量避免起泡。

1. 加样: 分别设空白孔、标准品孔、待测样品孔。空白孔加样品稀释液 100 μL , 标准品孔分别加入依次梯度稀释标准品, 待测样品孔加待测样品 100 μL , 给酶标板覆膜, 37°C 孵育 60 分钟。为保证实验结果有效性, 每次实验请使用新的标准品溶液。

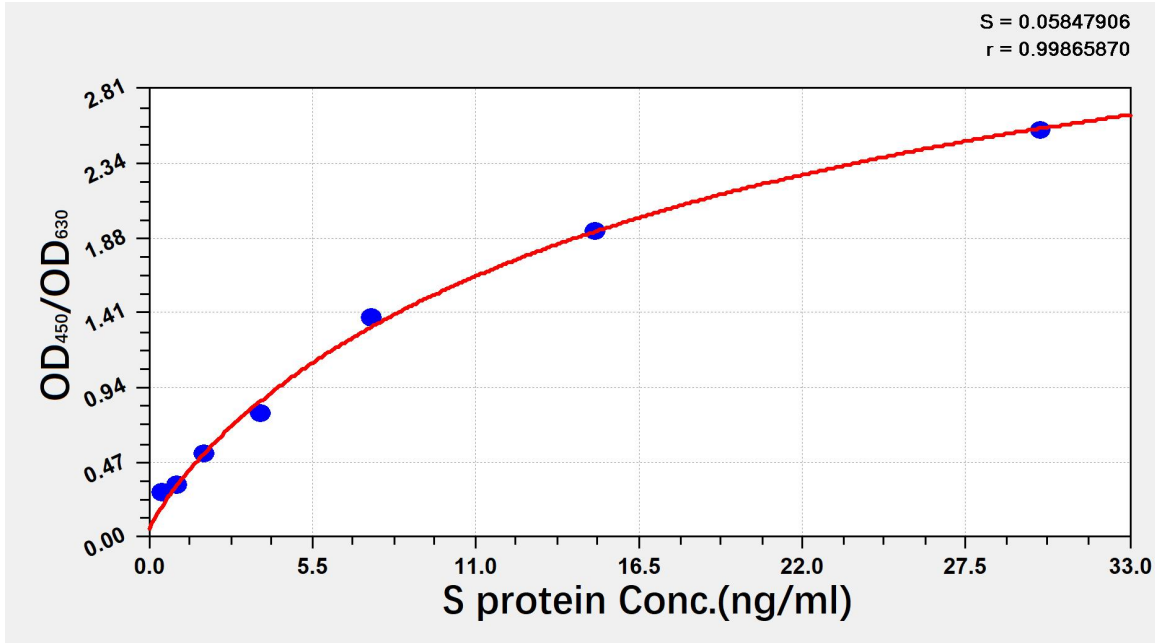
2. 弃去孔内液体，甩干，洗板 3 次，每次浸泡 1-2 分钟，大约 350 μ L/每孔，甩干并在吸水纸上轻拍将孔内液体拍干。立即每孔加入配好的**生物素标记的抗 S 蛋白抗体工作液** 100 μ L（在使用前 15 分钟内配制），注意不要有气泡，加样时将样品加于酶标板底部，尽量不触及孔壁，轻轻晃动混匀。给酶标板覆膜，37 $^{\circ}$ C 孵育 60 分钟。为保证实验结果有效性，每次实验请使用新的标准品溶液。
3. 弃去孔内液体，甩干，洗板 3 次，每次浸泡 1-2 分钟，大约 350 μ L/每孔，甩干并在吸水纸上轻拍将孔内液体拍干；
4. 立即每孔加入配好的**链霉亲和素 HRP 工作液** 100 μ L（在使用前 15 分钟内配制），注意不要有气泡，加样时将样品加于酶标板底部，尽量不触及孔壁，轻轻晃动混匀。给酶标板覆膜，37 $^{\circ}$ C 孵育 45 分钟；
5. 弃去孔内液体，甩干，洗板 3 次，每次浸泡 1-2 分钟，大约 350 μ L/每孔，甩干并在吸水纸上轻拍将孔内液体拍干；
6. 每孔加 TMB 底物溶液(TMB) 100 μ L，酶标板加上覆膜 37 $^{\circ}$ C 避光孵育 15 分钟左右（根据实际显色情况酌情缩短或延长，但不可超过 30 分钟。当标准孔出现明显梯度时，即可终止）。
7. 每孔加终止液 100 μ L，终止反应，此时蓝色立转黄色。终止液的加入顺序应尽量与底物液的加入顺序相同。
8. 立即用酶标仪在 450nm 波长测量各孔的光密度（OD 值）。应提前打开酶标仪电源，预热仪器，设置好检测程序。
9. 实验完毕后将未用完的试剂按规定的保存温度放回冰箱保存至有效期结束。

结果判断：

1. 以标准品的浓度为横坐标，OD 值为纵坐标，绘制标准曲线。如有设置复孔，则应取其平均值计算。以标准品的浓度为横坐标，OD 值为纵坐标，绘出标准曲线。亦可以 OD 值为横坐标，标准品的浓度为纵坐标，绘出标准曲线。
2. 推荐使用专业的曲线制作软件，如 curve expert 1.3 或 1.4，在软件界面既可根据样品 OD 值，由标准曲线查出相应的浓度，乘以稀释倍数；亦可将样品的 OD 值代入标准曲线的拟合方程式，计算出样品浓度，再乘以稀释倍数，即为样品的实际浓度。

3. 若样品 OD 值高于标准曲线上限，应适当稀释后重测，计算浓度时应乘以稀释倍数。

典型数值绘制标准曲线：



灵敏度、检测范围、特异性和重复性：

- 灵敏度：最小可测 235pg/mL。
- 检测范围：30ng-0.469ng/mL。
- 特异性：与其它蛋白无交叉反应。
- 重复性：板内，板间变异系数均<10%。

试剂盒说明：

检测过程中可能出现检测值过高超过试剂盒检测范围，此时应该进一步稀释样本重新实验；