

SARS-CoV-2 (2019-nCoV) Nucleocapsid Detection ELISA Kit

产品货号：BD-PD400079

试剂盒组成：

组分名称	规格	保存条件/保质期 (打开后)	数量
ELISA 酶标板(包被抗新冠 N 蛋白抗体) Microplate Wells	96T	4℃/一个月	1
HRP 标记抗新冠 N 蛋白抗体 Detection Antibody	0.2mg/ml	4℃/一个月	1
标准品(重组新冠病毒 N 蛋白) Standard	200ng	-80℃/一个月 避免反复冻融	1
标准品稀释液 Standard Dilution Buffer	2ml	4℃/一周	1
样品裂解液 (5×) Sample Lysis Buffer	6ml	4℃/一周	1
通用稀释液 (20×) Dilution Buffer Concentrate	8ml	4℃/一周	1
浓缩洗涤液 (20×) Wash Buffer Concentrate	25ml	4℃/一周	1
显色试剂 A Color Reagent A	13ml	4℃/一个月	1
显色试剂 B Color Reagent B	13ml	4℃/一个月	1
反应终止液 Stop Solution	8ml	4℃/一个月	1
酶标板覆膜	张	4℃/六个月	2
产品说明书	份	NA	1

说明：本试剂盒未使用前放于 4 度保存，有效期为 6 个月。

注意事项:

1. 本产品仅用于研究，不能用于临床诊断或治疗。
2. 试剂盒必须在保质期内使用。
3. 不允许混用来自不同试剂盒和不同批次号的试剂。
4. 本产品仅能够应用于检测说明书中标注的靶点抗原与样本。其它应用需经使用者设计验证后，根据结果评估使用的可靠性与准确性。

安全提示:

1. 在使用样品裂解缓冲液处理病毒样品时，请遵循二级生物安全实验室操作规范。
2. 本试剂盒中的终止液为酸溶液,应注意小心操作。
3. 所有生物样本均具有潜在生物安全风险，使用者应严格按照当地法律和相关规定操作处理和丢弃样本。
4. 出于安全原因，操作者应穿戴个人防护装备，如实验服，手套，口罩和护目镜。

实验技巧:

1. 使用前应将试剂盒的所有组分和待检样本温度恢复到室温。
2. 冻存样本检测前应彻底化冻并混匀，并注意避免反复冻融。
3. 每次试验均需制备相应的标准曲线，不同试剂盒以及不同天的标准曲线不能混用。
4. 注意在不同样本和步骤间及时更换加样槽和枪头，避免交叉污染。
5. 读取光吸收值应在加入终止液后二十分钟内完成。

试剂准备:

使用前应将试剂盒的所有组分和待检样本温度恢复到室温。

1×洗涤缓冲液配制 - 如浓缩洗涤缓冲液中已形成结晶，请平衡到室温至结晶完全溶解，混匀后取 20 mL 20×浓缩洗涤缓冲液至去离子水或超纯水中，定容至 400 mL。

1×稀释缓冲液的配制 - 如果浓缩稀释缓冲液中已形成结晶，请平衡到室温至结晶完全溶解，混匀后取 5 mL 20×浓缩稀释缓冲液至去离子水或超纯水中，定容至 100 mL。

检测抗体的配制—使用前 10,000g 离心 20 秒，然后用 1×稀释缓冲液将酶标检测抗体稀释至工作浓度，0.35 μ g/mL。

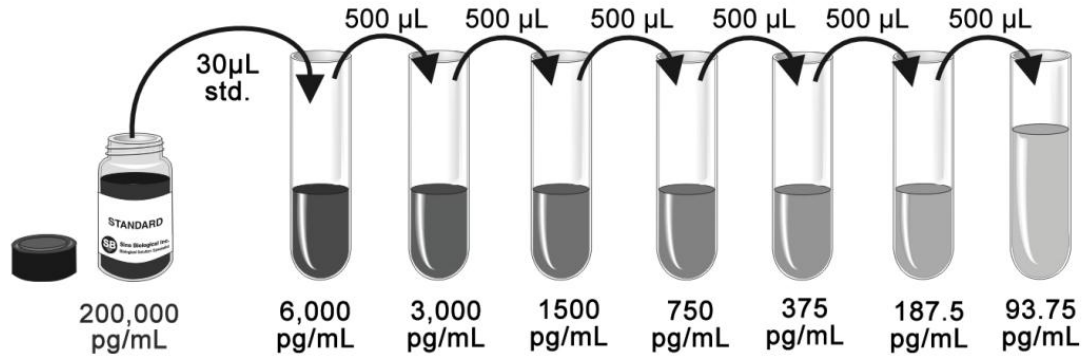
底物液的配制 - 使用前 15 分钟将显色 A 液、显色 B 液等体积混合，避光。确保底物液不被污染，如混合后的底物液已经变蓝，请勿使用。

标准品复溶 - 将 1mL 1×标准品稀释液加入到冻干标准品的安瓶中制备标准品储液，充分溶解，混匀后（勿翻转管子）等体积分装，-80 度保存，复溶后的储液浓度应根据冻干标准品标签上的标注蛋白量进行计算。

标准曲线的制备 - 取 8 个管，按照标准品浓度依次进行标记，移取 970 μ L 1×稀释缓冲液至标记为 6000 pg/mL 的离心管中，其余各管移取 500 μ L，根据标准品储液浓度计算 6000 pg/mL 标准品应移取的储液体积，加至离心管中，混匀，取 500 μ L 至下一标记浓度的离心

管中，混匀...进行一系列倍比稀释；6000 pg/mL 为标准曲线最高点，1×稀释缓冲液为空白 (0 pg/mL)。每次试验均需制备相应的标准曲线，不同试剂盒以及不同天的标准曲线不能混用。

下图仅用于标准曲线制备范例展示，由于冻干标准品的批次差异，复溶后标准品储液的蛋白浓度不同，应根据实际浓度计算配制标准曲线所需的储液体积。



试验流程:

使用前应将试剂盒的所有组分和待检样本温度恢复到室温。强烈建议所有的标准品和待检样本进行双复孔测定。

1. 按前述试剂准备项准备好各种试剂、标准品和待测样本。
2. 计算检测样本所需酶标条，将酶标条从铝箔袋取出，剩余的酶标条放回铝箔袋中并封好袋口，低温保存。
3. 洗板：用 1×洗涤缓冲液(300 µ L/孔)洗板三次，拍干酶标板。洗板对试验结果有重要影响，确保最后一次拍板没有洗液残留。
4. 样本孵育：加入标准品和待测样本，100 µ L/孔,确保 15 分钟内完成点样，室温孵育 2 小时。
5. 洗板：弃去孔中液体，加入 1×洗涤缓冲液(300 µ L/孔)洗板三次，拍干酶标板。
6. 酶标检测抗体孵育：将预先配制至工作浓度的检测抗体加入酶标板中，100µ L/孔，混匀，室温孵育 1 小时。
7. 洗板：弃去孔中液体，加入 1×洗涤缓冲液(300 µ L/孔)洗板三次，拍干酶标板。
8. 显色：将预先配制的底物液加入酶标板中，200 µ L/孔，混匀，室温避光孵育 20 分钟。
9. 终止：加入 50 µ L/孔终止液至酶标板中，轻轻震动酶标板至显色均匀。
10. 读值：20 分钟内读取 450nm 的光吸收值。19

结果处理:

如果待测样本 OD 值超出标准曲线最高点 OD 值，需将样本进行稀释后重新测定。

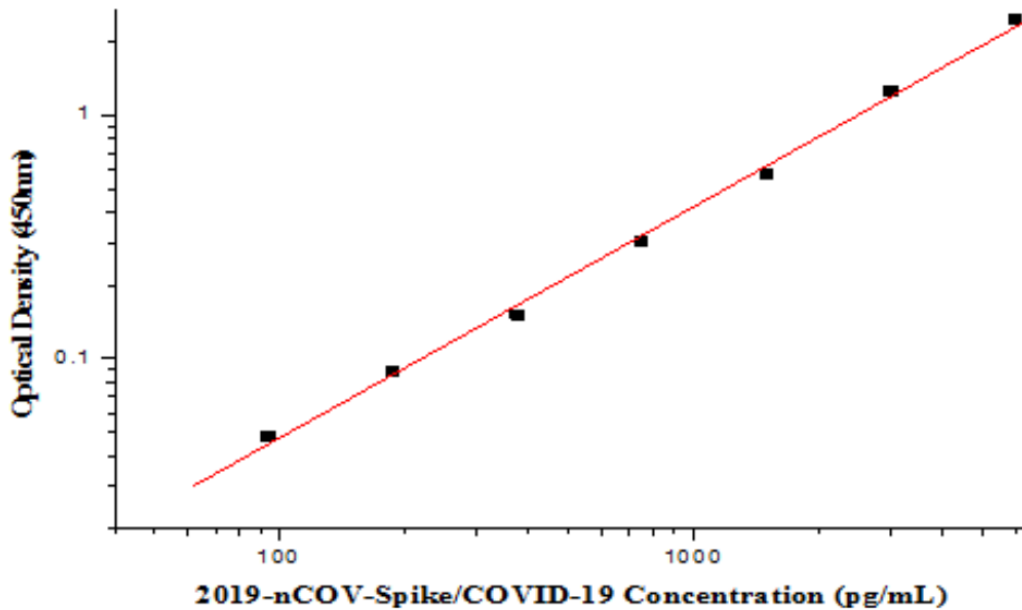
取标准品、空白对照、样本的平均光吸收值，减去空白对照的平均光吸收值，得到标准品、样品的光吸收校准值。以标准品浓度为横坐标，校准后的标准品光吸收值为纵坐标绘制标准曲线。

注意：为了灭活病毒，在样品中加入 1/5 体积的 5×样品裂解缓冲液（即在 200μ L 样品中加入 50μ L 的 5×样品裂解缓冲液），漩涡震荡，然后在 1×稀释缓冲液中进行 1 倍、5 倍和 10 倍稀释。

示例数据

以下标准曲线图仅供参考，应以同次实验标准品所绘标准曲线计算标本含量。

Concentration (pg/mL)	Zero standard subtracted OD
0	0
93.75	0.048
187.5	0.089
375	0.152
750	0.305
1500	0.568
3000	1.250
6000	2.460



实验流程简图

