

## 新型冠状病毒(XBB.1.5)中和抗体滴度检测试剂盒(新冠RBD蛋白)

### (酶联免疫分析法)

#### 【产品名称】

新型冠状病毒 (XBB.1.5) 中和抗体滴度检测试剂盒(新冠RBD蛋白)

#### 【规格】

96 Tests

#### 【货号】

RAS-N173

#### 【预期用途】

本试剂盒用于检测人血清样本中新型冠状病毒(XBB.1.5)中和抗体(Spike RBD), 适用于抗体定性检测和抗体滴度检测。

#### 【检测原理】

本试剂盒应用竞争ELISA方法。微孔板预包被了Human ACE2 Protein, 样本中的新型冠状病毒(XBB.1.5)中和抗体(Spike RBD)与微孔板上固定的Human ACE2 Protein特异性竞争HRP-SARS-CoV-2 Spike RBD(XBB.1.5)。用底物显色, 随后用终止液终止, 板孔中溶液会由蓝色变为黄色, 使用酶标仪在450 nm和630 nm处测定样本吸光度值(OD<sub>450 nm</sub>、OD<sub>630 nm</sub>)。样本OD<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub>与样本中新型冠状病毒(XBB.1.5)中和抗体(Spike RBD)的含量呈负相关。

#### 【产品组份】

表1.产品组份

| ID         | 组份名称                             | 规格 (96 T) | 物理状态 | 存储条件  |       |
|------------|----------------------------------|-----------|------|-------|-------|
|            |                                  |           |      | 未开启   | 已开启   |
| RAS173-C01 | Pre-coated Human ACE2 Microplate | 1 plate   | 固体   | 2-8°C | 2-8°C |

|            |                                   |             |     |          |          |
|------------|-----------------------------------|-------------|-----|----------|----------|
| RAS173-C02 | Positive Control                  | 100 $\mu$ L | 液体  | 2-8°C    | 2-8°C    |
| RAS173-C03 | Negative Control                  | 100 $\mu$ L | 液体  | 2-8°C    | 2-8°C    |
| RAS173-C04 | HRP-SARS-CoV-2 Spike RBD(XBB.1.5) | 20 $\mu$ g  | 冻干粉 | 2-8°C,避光 | -70°C,避光 |
| RAS173-C05 | 10xWashing Buffer                 | 50 mL       | 液体  | 2-8°C    | 2-8°C    |
| RAS173-C06 | Dilution Buffer                   | 50 mL       | 液体  | 2-8°C    | 2-8°C    |
| RAS173-C07 | Substrate Solution                | 12 mL       | 液体  | 2-8°C,避光 | 2-8°C,避光 |
| RAS173-C08 | Stop Solution                     | 7 mL        | 液体  | 2-8°C    | 2-8°C    |

### 【储存条件及有效期】

1. 未开封：试剂盒保存于2-8°C，有效期见外包装箱标签。
2. 已开封：试剂盒开封后各组分按照表1存贮条件保存，有效期自开封之日起为30天，未使用完的微孔板条需与干燥剂一起密封保存。
3. 不要使用过期试剂。

### 【需要但未提供的实验仪器与耗材】

1. 单道、多道微量移液器和移液器吸头：需满足10  $\mu$ L、300  $\mu$ L、1000  $\mu$ L加样需求
2. 恒温培养箱
3. 酶标仪，含450 nm/630 nm波长
4. 离心管：1.5 mL，10 mL
5. 计时器
6. 试剂瓶
7. 超纯水或去离子水

### 【试剂准备】

1. 使用前将所有试剂恢复至室温 (20°C-25°C)。如果溶液中有晶体形成，需平衡溶液至晶体完全溶解（可将溶液放置于恒温培养箱37°C平衡10-15 min）。

2. 按照表2建议, 将提供的HRP-SARS-CoV-2 Spike RBD(XBB.1.5)冻干品用超纯水/去离子水稀释为复溶液。冻干品复溶液使用前需在室温下平衡30 min, 每隔10 min轻轻震荡摇匀。请勿剧烈摇动或涡旋。冻干品复溶液应在-70°C保存, 冻融次数不要超过2次。

表2. HRP-SARS-CoV-2 Spike RBD(XBB.1.5)冻干品复溶液配制方法

| ID         | 组份名称                              | 规格 (96T) | 复溶液浓度     | 重构水体积 Vol. |
|------------|-----------------------------------|----------|-----------|------------|
| RAS173-C04 | HRP-SARS-CoV-2 Spike RBD(XBB.1.5) | 20 µg    | 100 µg/mL | 200 µL     |

## 【检测流程】

### 1. 工作液配制

1.1 配制1×Washing Buffer: 取50mL 10×Washing Buffer, 用超纯水/去离子水稀释并定容至500mL。

1.2 配制HRP- SARS-CoV-2 Spike RBD(XBB.1.5)工作液:

用Dilution Buffer将HRP-SARS-CoV-2 Spike RBD(XBB.1.5)冻干品复溶液稀释至0.5 µg/mL, 配制好的工作液需避光保存, 请现配现用。

1.3 配制Positive Control工作液和Negative Control工作液, 样本前处理:

a. 若用于抗体定性检测: 将待检样本、Positive Control和Negative Control用Dilution Buffer稀释至1:10(待检样本、Positive Control、Negative Control与Dilution Buffer的体积比为1:9, 例如: 10µL的待检样本+90µL的Dilution Buffer)。

b. 若用于抗体滴度检测: 建议将待检样本、Positive Control和Negative Control用Dilution Buffer从1:10-1:2560进行稀释。

### 2. 编号

将稀释后的待检样品对应酶标板板孔进行编号, 每次实验需设置一组 Positive Control 工作液和 Negative Control 工作液。

### 3. 加样

在对应板孔内先加入 50 µL 稀释后的样本、Positive Control 工作液和 Negative Control 工作液, 然后每孔再加入 50 µL HRP-SARS-CoV-2 Spike RBD(XBB.1.5)工作液, 轻轻震荡混匀。此步骤需连续操作, 切勿间隔时间较长, 以免影响结果。

#### 4. 孵育

用封板膜封板，放置 37°C 恒温培养箱孵育 1.0 h。

#### 5. 洗板

小心揭开封板膜。弃去孔中液体，每孔加入 300  $\mu$ L 1 $\times$ Washing Buffer，浸泡 30 s。共洗板 3 次。

#### 6. 显色

将微孔板拍干，每孔加入 100  $\mu$ L Substrate Solution。用封板膜封板，放置 37°C 恒温培养箱避光孵育 20 min。

#### 7. 终止

每孔加入 50  $\mu$ L Stop Solution，轻轻震荡酶标板至混合均匀。

注：孔中液体由蓝色变为黄色。

#### 8. 读数

用酶标仪测定各孔在 450 nm 和 630 nm 波长的吸光值，请在终止 3 分钟内读数。

注：各孔 OD<sub>450 nm</sub> 扣除 OD<sub>630 nm</sub> 读值可降低背景干扰。

### 【参考值】

1. 临界值（Cut-off）采用统计学方法进行确定，Cut-off=20%。

2. 样本抑制率计算公式：抑制率=(1-样本 OD<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub>/Negative Control OD<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub>)  
 $\times 100\%$ 。

注：建议实验室建立自己的参考范围。

2. 阴性对照质控范围：正常情况下，Negative Control 工作液 OD<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub>>1.000。

3. 阳性对照质控范围：正常情况下，Positive Control 工作液(1:10 稀释)OD<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub><0.250。

### 【检验结果的解释】

#### a. 抗体定性检测

1. 阳性判定：样本抑制率 $\geq$ 临界值（Cut-off），判定样本为新型冠状病毒(XBB.1.5)中和抗体(Spike RBD)阳性。

2. 阴性判定：样本抑制率 < 临界值 (Cut-off)，判定样本为新型冠状病毒(XBB.1.5)中和抗体 (Spike RBD) 阴性。

**b. 抗体滴度检测**

抗体滴度的判定：将阳性样本进行梯度稀释，检测样本结果仍判定为阳性时的最大稀释度。

**【检测方法的局限性】**

本产品仅用于检测人血清样本中新型冠状病毒(XBB.1.5)中和抗体(Spike RBD)，未对半定量检测方法建立定量限 (Limit of Quantitation, LoQ)、检测区间上限 (Upper Limit of Measuring Interval, ULMI) 和临界值 (Cut-off)，如果使用者计划进行半定量检测，建议根据需要自行建立半定量检测方法。

**【产品性能】**

- 1. 精密度：批内差 CV% < 15%  
批间差 CV% < 15%
- 2. 特异性：100% (80 份阴性血清，0 份血清检测为阳性)

**【注意事项】**

- 1. 本产品仅供科研使用，不能用于治疗 and 诊断。
- 2. 请严格按使用说明进行操作。
- 3. 不同批号的试剂不能混用。不可与其他厂家试剂混用。
- 4. 使用前各组份需平衡至室温，保证溶液晶体全部溶解。请在无尘洁净的环境下进行操作使用。
- 5. 试剂盒请在 2-8°C 保存，请勿使用过有效期的试剂盒。
- 6. 请根据实验需要配制各组分工作液，工作液即配即用，不可保存。

**【示例数据】**

**a. 抗体定性检测**

| 检测结果     | 结果判定 | 检测结果解释                             |
|----------|------|------------------------------------|
| 样本抑制率=5% | 阴性   | 未检测到新型冠状病毒(XBB.1.5)中和抗体(Spike RBD) |

|           |    |                                   |
|-----------|----|-----------------------------------|
| 样本抑制率=30% | 阳性 | 检测到新型冠状病毒(XBB.1.5)中和抗体(Spike RBD) |
|-----------|----|-----------------------------------|

**b. 抗体滴度检测**

**注：**不同板间的质控数据不能混用。每次测定均需设置阴性和阳性对照。

| 稀释倍数        | 样本 OD <sub>450 nm</sub> -OD <sub>630 nm</sub> | 抑制率          | Result     |
|-------------|---|--------------|------------|
| 10          | 0.182   | 93.7%        | 抗体滴度为 1280 |
| 20          | 0.249   | 91.4%        |            |
| 40          | 0.343   | 88.1%        |            |
| 80          | 0.482   | 83.3%        |            |
| 160         | 0.766   | 73.5%        |            |
| 320         | 1.043   | 63.9%        |            |
| 640         | 1.620   | 43.9%        |            |
| <b>1280</b> | <b>2.275</b>                                  | <b>21.2%</b> |            |
| 2560        | 2.652   | 8.1%         |            |
| 5120        | 2.673   | 7.4%         |            |
| blank       | 2.886   | 0%           |            |