

**新型冠状病毒RBD蛋白检
测试剂盒(酶联免疫法)**

DD3302



使用说明书

Version 22.1

目录 Contents

01/产品名称	02
02/包装规格	02
03/预期用途	02
04/检测原理	02
05/主要组成成分	02
06/储存条件及有效期	03
07/检验方法	03
07-1/实验前准备	03
07-2/实验步骤	03
08/简明操作程序	04
09/质量控制	04
10/结果计算	05
11/产品性能指标	05
12/注意事项	06

*所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

01/产品名称

新型冠状病毒RBD蛋白检测试剂盒(酶联免疫法)

02/包装规格

96 Tests

03/预期用途

本试剂盒用于测定细胞培养上清中的RBD蛋白含量。

04/检测原理

本试剂盒为双抗体夹心法检测RBD蛋白，试剂盒中含有包被过的聚苯乙烯酶标板，酶标板的微孔中包被有抗RBD蛋白的抗体。将稀释后的标准品或待检样本加入微孔中孵育，如果存在RBD蛋白，将会被预包被的抗体捕获，洗涤微孔以去除非特异结合的物质。将辣根过氧化物酶标记的抗RBD蛋白的抗体加入微孔，这种被标记的抗体将会与微孔中的抗原-抗体复合物结合形成夹心复合物，洗涤去除多余未结合的标记抗体。向微孔中加入TMB底物液，加入底物缓冲液后显示蓝色即表示有RBD蛋白存在，显色强度与样本中RBD蛋白浓度呈正比。用终止液终止反应的进行，测定每孔在450 nm处的吸光值(OD值)，根据标准品浓度与OD值绘制的标准曲线，可计算出待检样本中RBD蛋白的含量。

05/主要组成成分

	组分	盖色	DD3302-01
BOX 1	1. 预制酶标板(包被抗RBD蛋白的抗体)	-	12 × 8, 96孔
	2. 样品稀释液	-	12 ml × 2
	3. 浓缩洗涤液(20 ×)	-	30 ml
	4. 酶标抗体稀释液	-	12 ml
	5. 酶标抗体(100 ×)	透明	120 μl
	6. 显色液	-	12 ml
	7. 终止液	-	6 ml
	8. 封板膜	-	3张
	9. 说明书	-	1册
BOX 2	10. 标准品	红色	200 μl × 2

注：本试剂盒不可与其它商业化试剂盒混用。

需要但未提供的试剂与耗材：

- > 去离子水或蒸馏水
- > 振荡器
- > 洗板机
- > 移液器与配套灭菌枪头

- > 恒温箱或水浴锅
- > 酶标仪
- > 加样槽
- > 吸水纸

06/储存条件及有效期

1. BOX 1, 2 ~ 8℃保存。切勿冷冻, 避光保存;
BOX 2, -30 ~ -15℃保存, 开启使用后, 2 ~ 8℃储存应在1天内使用。若需多次使用, 应根据需要进行分装, 于-30 ~ -15℃及以下冻存, 不可反复冻融。
2. 生产日期及失效期见标签, 有效期12个月。

07/检验方法

07-1/实验前准备

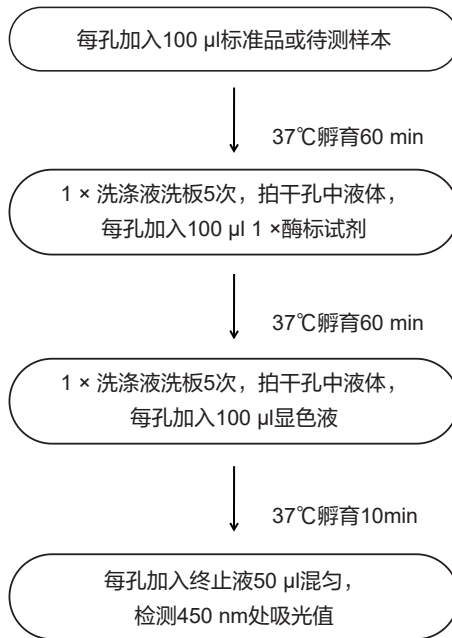
1. 将试剂盒从冷藏环境中取出, 放置室温(18 ~ 25℃)平衡至少30 min。
2. 1 × 洗涤液配制: 将浓缩洗涤液(20 ×)按照1:19的比例加入到去离子水或蒸馏水中, 混匀备用。例如一瓶30 ml的浓缩洗涤液(20 ×)可配制成600 ml 1 × 洗涤液。
3. 标准曲线的制备: 取8个离心管, 按照标准品浓度进行标记。标记为1500 pg/ml的离心管中加入990 μl样品稀释液, 其余各管加入500 μl样品稀释液。取标准品10 μl至1500 pg/ml离心管中, 混匀后取500 μl至下一浓度离心管中, 混匀。依次倍比稀释成750、375、187.5、93.8、46.9和23.4 pg/ml, 共7个梯度, 样品稀释液作为空白孔。每次实验均需制备相应的标准曲线, 不同试剂盒以及不同时间的标准曲线不能混用。
4. 1 × 酶标抗体配制: 将100 μl 酶标抗体(100 ×)加入到9.9 ml酶标抗体稀释液中, 上下颠倒混匀至少30次, 制备1 × 酶标抗体。
注意: 1 × 酶标抗体可保存在2 ~ 8℃于当天使用, 可根据待测样本数量准备工作液用量, 每设置1个样本或对照需1 × 酶标抗体100 μl。
5. 待测样本稀释(可选): 选取适当的稀释度或系列稀释, 对样品进行稀释。
6. 将恒温箱调至37℃, 待温度稳定后使用。

07-2/实验步骤

1. 加样: 将预包被板条固定在板架上, 将标准品和待测样本加入100 μl于反应孔中。
2. 温育: 盖上封板膜, 置37℃温育60 min。
3. 洗涤: 弃去孔内液体, 加入稀释后的洗液, 每孔不少于300 μl, 静置浸泡30秒, 弃去孔内洗液, 重复洗5次后在吸水纸上拍干。
4. 加酶: 每孔加入1 × 酶标抗体100 μl。
5. 温育: 盖上封板膜, 置37℃温育60 min。

6. 洗涤：弃去孔内液体，加入稀释后的洗液，每孔不少于300 μl ，静置浸泡30秒，弃去孔内洗液，重复洗5次后在吸水纸上拍干。
7. 显色：每孔加显色液100 μl ，盖上封板膜，置37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育10 min。
8. 终止：每孔加入终止液50 μl 终止反应。
9. 读值：用酶标仪读值，测定每孔在450 nm波长的OD值。

08/简明操作程序



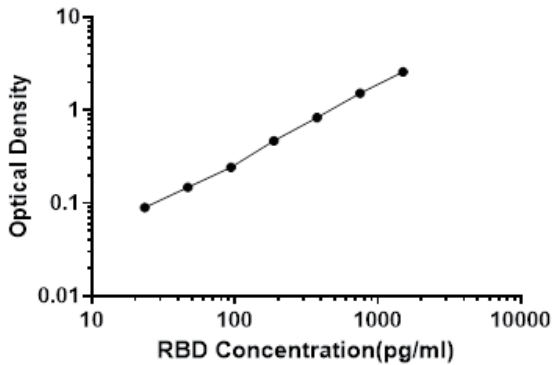
09/质量控制

标准曲线相关系数 $R^2 \geq 0.99$ ，否则实验无效

10/结果计算

1. 将标准品的OD值减去空白孔OD值后，以标准品的浓度为横坐标，以OD值为纵坐标，采用双对数拟合绘制标准曲线。
2. 将样本的OD值减去空白孔OD值后，代入标准曲线的拟合方程式，计算出样本浓度。若样本有稀释，则需再乘以稀释倍数即为样本实际浓度。
3. 本试剂盒检测范围：23.4 - 1500 pg/ml。若待检样本OD值高于标准曲线最高点OD值，应将样本适当稀释后重新实验。
4. 标准曲线示例：

标准曲线仅用于演示，每次实验均需制备相应的标准曲线。



11/产品性能指标

精密密度：变异系数(Coefficient of variation, CV) <15%。

12/注意事项

1. 操作前仔细阅读使用说明书，严格按照试剂盒说明书进行实验操作。
2. 避免在恶劣的环境(如含有84消毒液、次氯酸钠、酸碱或乙醛等高浓度腐蚀性气体及灰尘的环境)条件下进行实验，实验室消毒应在实验结束后进行。
3. 试剂盒应平衡至室温下方可打开使用，试剂使用前应充分摇匀。各组分储存与用法请严格按照使用说明，切勿自行更改与稀释。在使用前，请严格检查试剂盒的效期与包装。如果效期超时或包装破损，请不要用于实验操作。试剂需在有效期内使用后，剩余试剂要及时密封，参照说明书进行保存。
4. 预制酶标板可拆卸，每次将需用数量的板条取出后，其余未用板条须放回自封袋内于2 ~ 8℃储存待用。拆卸板条时，切勿碰触孔底，以免指纹或刮痕等影响之后的读值。洗板后，切勿放置太久而干燥失活，需立即进行下一步操作。
5. 加样品时，避免产生气泡，避免枪头触及板底，造成刮痕影响读值。
6. 封板膜不可重复使用。不同批号的试剂组分不可混用，微量移液器枪头不可混用，以免交叉污染。
7. 若浓缩洗涤液出现结晶，应置于37℃中至溶解后再使用。洗涤时各孔需加满洗液，以防止孔口有游离酶标记底物未被洗干净。洗涤要彻底，加液时不可用力过猛，避免串流。每次洗涤均应用干孔内液体，最后应将孔内液体拍干(洗板推荐使用洗板机)。
8. 结果判读，请在反应终止后15 min内进行。
9. 操作中须佩戴一次性手套和实验室规定的防护物品，检测后的废液和用具须按照当地政府和有关国家规定进行无害化处理。
10. 本产品仅供科学研究使用，不得用于临床医学诊断及任何其他非合理用途。



Vazyme Biotech Co., Ltd.

Web: www.vazyme.com

Tel: +86-400-600-9335

Sales: sales@vazyme.com

Support: support@vazyme.com

