

## 产品信息 ( Product Details )

### 产品概述 ( Summary )

|                               |                                                                                                                                                                                                         |
|-------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 产品名称 ( Product name )         | 2019-nCoV Surrogate Virus Neutralization检测试剂盒                                                                                                                                                           |
| 货号 ( Catalog# )               | ATO00040                                                                                                                                                                                                |
| 描述 ( description )            | <p>本试剂盒基于中和 ELISA 分析技术，将 RBD 蛋白预先包被在酶标板上，之后将阳性对照、阴性对照、分析样本分别加入到微孔中反应，再加入HRP标记的ACE2蛋白，样本中的RBD中和抗体会阻断RBD和ACE2之间的相互作用，清洗掉未结合的试剂，将显色底物溶液添加到微孔中显色，显色强度与样本中的RBD中和抗体浓度成反比。</p> <p>用于测定血清和血浆样本 RBD 中和抗体的含量。</p> |
| 运输方式 ( Shipping )             | 蓝冰运输。                                                                                                                                                                                                   |
| 稳定性&储存 ( Stability &Storage ) | <p>收到试剂盒后请将阳性对照、阴性对照、检测溶液 A 以及预包板保存于-20℃，封板膜放置于常温保存,其余试剂请置于 4℃保存备用。</p>                                                                                                                                 |

试剂盒按推荐温度保存6个月，信号强度降低小于 10%。

### 使用方法 ( Standard Operating Procedure ) 所需设备及试剂

- 450 nm滤光片酶标仪，含540 nm或570nm校正波长更佳
- 单道或多道微量移液器，移液器枪头
- 去离子水
- 500 mL量筒
- 样品稀释管或不同规格EP管
- 吸水纸
- 微孔板振荡仪 ( 可选 )

#### 一、样品收集与储存

处理所有的血液和血清，请按照NCCLS提供的处理和储存血清和血浆样本的建议 ( 1990年H18-A批准的血液样本处理和标准程序 )。

## 2019-nCoV Surrogate Virus Neutralization检测试剂盒

血清：全血室温放置60分钟或4℃过夜，然后1000 x g离心15分钟，取上清检测，或分装后于≤-20℃冰箱保存，避免样品反复冻融。

血浆：使用EDTA、肝素或柠檬酸盐作为抗凝剂收集血浆，样品采集后30分钟内1000 x g离心15分钟，取上清检测，或分装后于≤-20℃冰箱保存，避免样品反复冻融。

### 二、试剂准备

使用前将所有试剂和样本置于室温平衡。

1.20×浓缩清洗液：如果浓缩清洗液中有晶体析出，平衡至室温并摇匀，直到晶体完全溶解，25mL浓缩清洗液使用去离子水定容至500mL，得到清洗工作液。

2.血清、血浆样本：推荐血清，血浆使用样本稀释液 1:9稀释后上样，例如10μL样本加入90μL样本稀释液。如果样本检测值超出检测范围，可适当调整稀释倍数并重新测定，或预估样本中抗体浓度，在实验之前预先稀释数个梯度同时进行测定。

3.阳性对照工作液：阳性对照临用前震荡混匀后用掌上离心机瞬时离心，使液体集中于管底，使用样本稀释液1:100稀释至工作浓度。

4.阴性对照工作液：阴性对照临用前震荡混匀后用掌上离心机瞬时离心，使液体集中于管底，使用样本稀释液1:10稀释至工作浓度。

5.检测溶液A工作液：检测溶液A临用前震荡混匀后用掌上离心机瞬时离心，使液体集中于管底，使用检测溶液稀释液1:2000稀释至工作浓度。

6.显色液：避光保存，显色时100μL /孔。

7.终止液：显色完毕后50μL /孔。

### 三、实验步骤

使用前将所有试剂和样本置于室温，建议对所有阳性对照、阴性对照和待测样本进行一式两份的分析。

1. 按照前面章节的指示准备所有试剂和样本。

2. 从板架上取下多余的微孔板条，将其放回装有干燥剂包的铝箔袋中，然后重新密封保存于-20℃。

## 2019-nCoV Surrogate Virus Neutralization检测试剂盒

3. 每孔分别加入50μL稀释好的阳性对照工作液，阴性对照工作液和待测样本，用封板膜盖好，37℃孵育30分钟。
4. 每孔分别加入50μL稀释好的检测溶液A工作液，用封板膜封住，使用微孔板振荡仪或手动轻微震荡5分钟后，37℃孵育1小时。
5. 弃去孔内液体，每孔加入 300μL的清洗工作液，轻微震荡后弃去孔内液体，将酶标板倒扣在吸水纸上轻拍，使残留在孔内的液体全部去除，重复洗板5次，此过程也可采用尖嘴喷射瓶，多道移液器或自动洗板机来完成。
6. 每孔加入100μL显色液，37℃避光显色8-10分钟。
7. 每孔加入50μL终止液，孔里的颜色应该由蓝色变至黄色，如果孔内颜色为绿色或颜色变化不均匀，轻轻震动酶标板使颜色均一。
8. 擦干酶标板底部水气，立刻用酶标仪在 450nm 波长测量各孔的O.D.值，如果波长校正可用，则设置为540 nm或570 nm，如果波长校正不可用，则从450 nm的读数中减去540 nm或570 nm的读数，这种修正可去除酶标板读数中的光学偏差，如果没有校正波长，可直接读取450 nm的读数，但读值有可能不准确。

### 四、结果判读

为确保结果的有效性，阳性对照和阴性对照检测O.D.必须在下表所列的范围内，如果O.D.不符合下表要求，则实验无效，须重新进行测试。

| 项目   | O.D.  | 结果判断 |
|------|-------|------|
| 阳性对照 | < 0.3 | 通过   |
| 阴性对照 | > 0.9 | 通过   |

取每个阳性对照、阴性对照、待测样本的复孔平均值 O.D.，然后计算抑制率，抑制率计算公式如下：

$$\text{抑制率} = \left(1 - \frac{\text{样本 OD 值}}{\text{阴性对照 OD 值}}\right) * 100\%$$

### 五、判定阈值

## 2019-nCoV Surrogate Virus Neutralization检测试剂盒

| 项目     | 阈值          | 结果 | 检测结果判读   |
|--------|-------------|----|----------|
| 中和抗体检测 | $\geq 20\%$ | 阳性 | 检测到中和抗体  |
|        | $< 20\%$    | 阴性 | 未检测到中和抗体 |

### 六、精密度

批内差：CV<8%

批间差：CV<10%

### 七、稳定性

试剂盒按推荐温度保存6个月，信号强度降低小于 10%。

### 八、实验细节说明

1. 在试剂盒标签上的有效期内使用，不要与其他厂家的试剂盒混合使用。
2. 如果样本检测值超出检测范围，可适当调整稀释倍数并重新测定，或预估样本中RBD抗体浓度，在实验之前预先稀释数个梯度同时进行测定。
3. 为避免交叉污染，不同标准品、样本、试剂的加样需更换移液枪头，每管试剂使用单独的容器储存。
4. 在孵育过程中贴紧封板膜。
5. 显色液避光保存，临用前15分钟从冰箱取出室温平衡。
6. 浓缩清洗液（20×）需使用去离子水1：20稀释至工作浓度，去离子水不包含在试剂盒中，需实验人员自备。
7. 终止液为酸性溶液，具有轻微腐蚀性，使用时避免接触皮肤、眼、耳、口等暴露部位，如不慎接触，使用大量清水冲洗后观察接触部位反应，如情节严重请及时就医。
8. 试剂盒酶标板条可按需拆卸使用，已开封的试剂盒建议在1个月内使用，未开封的试剂盒所有试剂均按样品清单中推荐储存条件保存，收到试剂盒后请将阳性对照、阴性对照、检测溶液A以及预包板保存于-20℃，其余试剂请置于4℃保存备用。

### 九、常见问题解决指南

| 问题     | 原因       | 解决方案                  |
|--------|----------|-----------------------|
| 标准曲线差  | 移液不精确    | 检查和校正                 |
|        | 标准品准备不正确 | 进行正确的                 |
| O.D 值低 | 孵育时间太短   | 保证充足的                 |
|        | 温度不正确    | 试剂平衡至<br>度正确          |
|        | 试剂体积不正确  | 检查移液器<br>说明书一致        |
| 精密度低   | 移液不精确    | 检查和校正                 |
|        | 混匀不充分    | 充分混匀和                 |
|        | 洗涤不充分    | 按说明书要                 |
| 背景值高   | 洗涤不充分    | 按说明书要                 |
|        | 清洗液污染    | 重新配置清                 |
| 灵敏度低   | 试剂盒储存不当  | 试剂盒短期<br>长期保存根<br>各组分 |

### 组分和说明 ( Component and Instruction )

#### 样品清单及储存条件

| 样品名称 | 规格  | 描述                                 | 推荐储存条件         |
|------|-----|------------------------------------|----------------|
| 预包板  | 1 板 | 96孔聚苯乙烯微孔板 ( 12列*8孔 ) , 预包被RBD 蛋白。 | 密封状态放置于-20℃保存。 |
| 阳性对照 | 1 管 | 12μL阳性对照, 临用前用样本稀释液1:100 稀释至工作浓度。  | 放置于-20℃保存。     |
| 阴性对照 | 1 管 |                                    | 放置于-20℃保存。     |

## 2019-nCoV Surrogate Virus Neutralization检测试剂盒

|         |     |                                                    |            |
|---------|-----|----------------------------------------------------|------------|
|         |     | 60μL 阴性对照，临用前用样本稀释液1:10 稀释至工作浓度。                   |            |
| 检测溶液A   | 1 管 | 12μL HRP标记 ACE2 蛋白（含防腐剂），临用前用检测溶液稀释液1:2000稀释至工作浓度。 | 放置于-20℃保存。 |
| 样本稀释液   | 1 瓶 | 25 mL 稀释液（含防腐剂），用于阳性对照、阴性对照、血清、血浆的稀释。              | 放置于4℃保存。   |
| 检测溶液稀释液 | 1 瓶 | 25 mL 稀释液（含防腐剂），用于检测溶液A的稀释。                        | 放置于4℃保存。   |
| 浓缩清洗液   | 1 瓶 | 25 mL（20×）浓缩清洗液（含防腐剂），临用前用去离子水1:20稀释至工作浓度。         | 放置于4℃保存。   |
| 显色液     | 1 瓶 | 12 mL TMB（四甲基联苯胺）。                                 | 放置于4℃保存。   |
| 终止液     | 1 瓶 | 6 mL 2M 酸液。                                        | 放置于4℃保存。   |
| 封板膜     | 4 片 | 用于实验中封闭酶标板。                                        | 放置于常温保存。   |

### Note

For research use only .