

产品信息 (Product Details)

产品概述 (Summary)

产品名称 (Product name)	2019-nCoV Surrogate Virus Neutralization Test Kit(E484K,K417T,N501Y)
货号 (Catalog#)	ATK00019
描述 (description)	SARS-CoV-2 Surrogate Virus Neutralization Test Kit(E484K,K417T,N501Y)基于中和抗体ELISA检测的原理，可以检测血清或血浆中抗SARS-CoV-2病毒的中和抗体浓度，这种抗体可以阻断RBD(E484K,K417T,N501Y)和ACE2之间的相互作用，该试剂盒包含两个关键成分：HRP标记的重组人ACE2蛋白和SARS-CoV-2病毒RBD(E484K,K417T,N501Y)蛋白。

本试剂盒用于测定血清或血浆样本 RBD(E484K,K417T,N501Y)中和抗体的浓度。

运输方式 (Shipping)

蓝冰运输。

稳定性&储存 (Stability &Storage)

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。

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

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)。

血清样本：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

2019-nCoV Surrogate Virus Neutralization Test Kit(E484K, K417T,N501Y)

装后于 $\leq -20^{\circ}\text{C}$ 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 $\leq -20^{\circ}\text{C}$ 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。

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，得到清洗液。

待测样本：将待测样本用样本稀释液按照体积比1:9稀释，例如10 μL 样本加入90 μL 样本稀释液。

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。

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。

检测溶液A（HRP标记）：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。

显色液：避光保存，显色时100 μL /孔。室温下孵育8~10分钟。

终止液：显色完毕后50 μL /孔。

三、实验步骤

使用前将所有试剂和样本置于室温，建议对所有标准品、对照品和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°C 。

3. 将稀释的阳性对照、阴性对照和待测样本分别与检测溶液A按照 1:1等体积混合。

例如，将100 μL 阳性对照与100 μL 检测溶液A混合，该步骤可在96孔PCR板或者96孔Elisa板中进行。

4. 将阳性对照混合物、阴性对照混合物和待测样本混合物各100 μL 添加到对应的酶标板孔中，用封板膜盖好， 37°C 孵育1小时。

2019-nCoV Surrogate Virus Neutralization Test Kit(E484K,

K417T, N501Y)

5. 弃去孔内液体，每孔加入 300μL 的清洗液，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，每次检测必须包括阳性和阴性对照，阳性对照和阴性对照检测 OD450 必须在下表所列的范围内，如果 OD450 值不符合下表要求，则试验无效，必须重复进行。

项目	OD450 值	结果判断
阳性对照	< 0.3	通过
阴性对照	> 0.9	通过

用抑制率来判定样本中抗 SARS-CoV-2 中和抗体的水平，判定公式如下：

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

五、判定阈值

项目	阈值	结果	检测结果判读
中和抗体检测	≥ 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

2019-nCoV Surrogate Virus Neutralization Test Kit(E484K, K417T, N501Y)

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. 如果阴性对照或阳性对照检测OD值超出检测范围，可适当缩短显色时间。
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试剂瓶标签上所示保存，收到试剂盒后请将阴性对照、阳性对照、检测溶液 A 以及 96 孔板保存于-20℃，其余试剂请置于 4℃保存备用。

九、常见问题解决指南

问题	可能原因		解决方案
阳性质控读数低或者异常	检测溶液A和预包板失活	a.	增加反应时间或检测试剂浓度以补偿可能丧失的活性
	仪器设置错误	a.	检查仪器设置
		a.	提前一小时预热酶标仪
	加样错误	a.	检查加样步骤
	试剂过早提前准备	a.	确保工作液现配现用
	温度不稳定	a.	孵育时间和温度参见说明书，避免反复冻融
	样品中含有抑制剂	a.	加入空白孔
		b.	保证DMSO < 1%
	洗涤不完全	a.	增加洗涤次数和洗液量

2019-nCoV Surrogate Virus Neutralization Test Kit(E484K,

读数背景高	缓冲液样品污染、降解	a.	确保正确准备，使用和存储了缓冲液和样品
读数不稳定	移液或稀释方法不一致	a.	校正移液器
		b.	准备预混液以减少移液不一致
		c.	设置平行孔以获得更准确的结果
	孔中有气泡	a.	轻震酶标板以去除气泡
	读数过高	a.	调整样品浓度以达到最佳信号强度。
		b.	孵育时间调整至45分钟
	试剂和样品混合不充分	a.	确保试剂与样品完全混合
显色不完全	缓冲液残留或污染	a.	阴性对照中的颜色应在添加TMB底物后10秒钟内出现。 如未按上述时间显色可考虑以下情况： a.在添加TMB之前确保没有污染或残留的缓冲液 b.延长TMB孵育时间到15分钟

组分和说明 (Component and Instruction)

**2019-nCoV Surrogate Virus Neutralization Test Kit(E484K,
K417T,N501Y)**

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(E484K,K417T, N501Y)蛋白。	密封状态 放置于-20 °C保存。
阳性对照	1 管	12μL /管阳性对照, 临用前用样本 稀释液1:100 稀释至工作浓度。	放置于-20 °C保存。
阴性对照	1 管	60μL /管阴性对照, 临用前用样本 稀释液1:10 稀释至工作浓度。	放置于-20 °C保存。
检测溶液A	1 管	12μL/管-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 °C保存。
样本稀释液	1 瓶	25 mL稀释液 (含防腐剂) , 用于 待测样本的稀释。	放置于4 °C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 °C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 °C保存。
显色液	1 瓶	12 mL TMB (四甲基联苯胺) 。	放置于4 °C保存。
终止液	1 瓶	6 mL 。	放置于4 °C保存。
封板膜	3 片	用于实验中封闭酶标板。	放置于常 温保存。

Note

For research use only .