SARS-CoV-2 Nucleocapsid Protein IgG Antibody ELISA Kit

Catalog No.: RK04139

version: 2.0

*使用产品前，请务必阅读产品包装内说明书

产品简介

本试剂盒用于检测血清和血浆中 SARS-CoV-2 Nucleocapsid Protein IgG 的抗体滴度。只用于定性，不可定量。

产品检测原理

本实验采用间接 ELISA 法。将抗 SARS-CoV-2 Nucleocapsid 抗原预先包被在酶标板上，向微孔中分别加入抗体和样品，样本中 SARS-CoV-2 Nucleocapsid Protein IgG Antibody 与固相载体上的抗原结合。孵育后，未结合的样品在洗涤过程中会被洗去，加入二抗，并与样品中的抗原抗体结合。孵育和洗涤后，加入底物 TMB。样品中 SARS-CoV-2 Nucleocapsid Protein IgG Antibody 的含量与 TMB 反应的颜色深浅呈正相关，加入酸终止反应并测量吸光值。

试剂盒组分及保存条件

未拆封的试剂盒在 1-2 周内可保存于 2-8°C，已拆封的产品须在 1 个月内使用完；若 1-2 周以后使用，请按照以下条件分别保存各组分。

组分	规格	货号	保存条件
抗原预包被酶标板 Antigen Microwell Plate Coated	8×12	RM17517	将未使用的板条放回装有干燥剂的铝箔袋中并储存在-20°C 或以下。扣好密封条并重新密封。
质控品(100x) Control Antibody （100x）	1 ×20 μL	RM17518	取出并在-20°C 或以下的条件下存放，避免反复冻融。
二抗（1000×） Concentrated Secondary Antibody (1000×)	1 ×30 μL	RM17519	最多可在-20°C 存储六个月
质控品/样本稀释液（R1）（4x） Control/Sample Diluent (R1)（4x）	1 ×20 mL	RM00023	最多可在2-8°C存储六个月

二抗稀释液（R2） Secondary Antibody Diluent（R2）	1 ×12 mL	RM00024	最多可在2-8℃存储六个月
浓缩洗涤液（20x） Wash Buffer(20x)	1 ×30 mL	RM00026	
显色底物 TMB Substrate	1 ×12 mL	RM00027	
终止液 Stop Solution	1 ×6 mL	RM00028	
封板膜 Plate Sealers	4 张		
说明书 Specification	1		

*特别提示：表中所列为 96T 规格试剂盒，48T 试剂盒除标准品外，其他组分量均减半，请知悉。

实验所需的材料

1. 酶标仪，并配置主波长 450nm，次波长 630nm 或 570nm。
2. 单/多通道移液器及吸头。
3. 去离子水或蒸馏水。
4. 洗瓶或是自动洗板机。
5. 恒温箱。
6. 灭菌的试管或是 EP 管，用于样本或是标准蛋白的稀释。

重要提示

*本产品仅用于科研，不能用于临床诊断。

1. 请留意产品标签上的有效期时间，并在有效期前使用本产品。
2. 请勿将不同批次或者来自不同厂家的试剂混合使用。
3. 如测试获得的样本 OD 值超过了产品的最高检测限，请使用产品中的质控品/样本稀释液(R1)（1x）对样本进行稀释。所以，在正式测试样本前，建议先进行样本的预测试。
4. 实验过程中的加样、洗板、孵育时间、孵育温度等操作均会对最终结果造成影响，请严格管理实验流程并做好记录。
5. 样本的收集、处理及保存均会对检测结果产生影响，请务必严格管理样本的处理过程。

6. 在本试验中对所有因素进行试验之前，不能排除干扰的可能性。
7. 相关试剂中可能存在有害物质，使用中请注意佩戴手套，必要时佩戴护目镜。
8. 终止液为腐蚀性液体，请做好相关防护。
9. 为保证最佳检测效果，相关试剂组分的保存请参照标签或是说明书。
10. 试剂配制后的混匀对检测结果非常重要，但部分蛋白或是抗体可能对剧烈的涡旋非常敏感，可能造成活性损失，请谨慎使用涡旋。
11. 请使用灭菌的耗材进行试剂配制，以免造成试剂污染，影响最终检测结果。
12. 为保证最佳检测效果，溶解后的标准蛋白及相关试剂的工作液不建议冻存后重复使用。
13. 产品在储存或是使用中，请注意避光。
14. 为保证最佳检测效果，在加不同样本时，请注意更换吸头。
15. 请严格按照说明书的要求进行试剂配制。如果您将分次使用试剂盒，请使用封口袋密封好预包被板，并且在开封后的 1 个月内使用完。
16. 48T 的试剂盒也同样可参考说明书进行实验。

样本收集与保存

1. 血清：使用血清分离管，分离血清前让样品凝结 30 分钟，1000 xg 离心 10 分钟并及时检测；或将样本置于-20℃至-70℃中分装保存（24 小时内检测可置于 2-8℃），避免反复冻融。
2. 血浆：收集血浆时用 EDTA 或肝素作为抗凝剂，在 30 分钟内 1000 xg 离心 15 分钟收集样本，及时检测；或将样本置于-20℃至-70℃中分装保存（24 小时内检测可置于 2-8℃），避免反复冻融。
3. 避免使用溶血、高血脂血清/血浆样本。

试剂准备

1. 使用前将所需使用的试剂平衡至室温。如果浓缩液中有结晶析出，需要将试剂置于室温轻轻摇动，直至晶体完全溶解。
2. 质控品/样本稀释液（R1）（4x）：在使用前用双蒸水或去离子水将质控品/样本稀释液以 1：4 的比例稀释。
3. 质控品（100x）：在使用前用质控品/样本稀释液(R1)（1x）将质控品以 1：100 的比例稀释，注意：稀释后的工作液应在 30 分钟内使用。
4. 二抗（1000x）：在使用前用二抗稀释液（R2）将二抗以 1：1000 的比例稀释。注意：稀释后的工作液应在 30 分钟内使用。
5. 洗涤液：在使用前用双蒸水或去离子水将洗涤液以 1：20 的比例稀释。

实验步骤

为获得理想的实验结果，请注意，所需使用的试剂在使用前平衡到室温。

1. 按照前几节的指示准备好所有试剂、工作标准品和样品。从板框上取下待用的微孔板条，将剩余的板条放回装有干燥剂的铝箔袋中，然后重新密封保存。
2. 每孔加入 1x 洗涤缓冲液 350μL，静置 40 秒后弃去液体，该步骤共洗涤 3 次。
3. 在空白孔中添加 100μL 质控品/样本稀释液(R1)（1x）。
4. 在使用前 15 分钟配制好质控品（100x）工作液。
5. 在其他孔中分别加入 100μL 不同浓度的质控品或样品，用提供的封板膜封闭板孔，37℃孵育 2 小时。
6. 在使用前 15 分钟配制好二抗（1000x）工作液。
7. 弃去孔中液体，重复步骤 2 中的洗涤步骤。
8. 每孔中加入二抗（100μL/孔），并盖上新的封板膜，37℃下孵育 1 小时。
9. 在孵育期间，打开酶标仪预热 30 分钟后再进行测量。
10. 弃去孔中液体，重复步骤 2 中的洗涤步骤。
11. 向孔中加入 TMB 底物（100μL/孔）。 在 37℃下避光孵育 15-20 分钟。
12. 加入终止液（50μL/孔），并立即放入酶标仪，在 5min 内测定每个孔 450nm 的 OD 值。 如果可以选择校正波长，则设置为

570 nm 或 630 nm。并从 450 nm 的读数中减去 570 nm 或 630 nm 的读数，这种方式可以校正并去除非显色物质的 OD 值，从而获得更准确的检测结果。如果无法选择校正波长，则获得的读数将偏高，导致读数的准确度下降。

简要实验流程

准备好需要的试剂

洗板 3 次

↓

向孔中加入 100 μL 质控品或待测样本

37℃孵育 2 小时，然后洗板 3 次

↓

每孔加 100 μL 二抗

37℃孵育 1 小时，然后洗板 3 次

↓

加入 100 μL 底物溶液

37℃避光，孵育 15-20 分钟

↓

加入 50 μL 终止液

↓

5min 内检测 450nm 波长的 OD 值

校正波长设置为 570nm 或 630nm

特异性

该检测可识别 SARS-CoV-2 Nucleocapsid 蛋白抗体。

ELISA 常见问题分析及解决方法

问题描述	可能原因	解决方法
高背景值	洗板不充分	按要求充分洗涤，保证洗板时间、次数及每孔加样量无误
	孵育条件不正确	检查孵育时间、温度是否按要求进行
	试剂、样本的交叉污染	注意实验过程中可能造成样本交叉污染的操作；配制新鲜的试剂，重复测试
无信号值或过低的信号值	试剂配制和使用错误	检查试剂配制浓度是否正确，是否按照顺序使用
	酶标仪使用、设置不正确	提前预热；设置正确的主、次波长读数
	显色时间过短	最佳显色时间应控制在 15-25min
	终止后，未及时读数	加入终止液后，在 5min 内读数
	样本基质效应	使用阳性质控品对照测试
过强的信号值	TMB 底物变质	检查 TMB 底物是否变蓝，使用新的底物试剂
		避免使用金属物质接触底物造成变质失效
	每步实验未更换新的封板膜	每步实验更换新的封板膜
	样本中目标蛋白量过高	预测试，选择适当稀释倍数测试

重复性差	加样量不均一	检查移液器，定期校准
	样本有杂质或沉淀物	样本使用前，请离心样本
	试剂配制未充分混匀	加样前充分混匀试剂

*仅供科研使用，不可用于治疗或诊断目的.