

SARS N 抗原 ELISA 检测试剂盒使用说明书

前言：

N 蛋白 (nucleocapsid protein 核衣壳蛋白) 是冠状病毒中一种重要的结构蛋白。在冠状病毒颗粒中, N 蛋白处于病毒颗粒的核心部分, 以与基因组 RNA 结合的形式存在。N 蛋白在病毒的包装中起着重要的作用。病毒 RNA 在细胞质中复制完成以后和 N 蛋白结合, 结合产物可以被 M 蛋白 (small membrane protein) 识别并被包装到病毒颗粒中。已知 SARS-CoV 病毒的测序结果分析表明该基因保守性很强, 极少发生突变。研究表明大多数 SARS 病毒感染者血清中都存在 N 蛋白。目前对动物冠状病毒感染的检测也是采用对 N 蛋白的检测。

本试剂盒采用双抗体夹心法检测人或动物血清中的 SARS 病毒 N 蛋白, 通过检测 N 蛋白的存在与否来直接判断被检者是否被感染 SARS 病毒。其原理是用抗 SARS 病毒 N 蛋白单克隆抗体包被酶标板, 形成固相抗体, 加入待检标本 (被检标本含有 SARS 病毒), N 蛋白与 N 蛋白单克隆抗体结合形成抗原—抗体复合物, 再加入抗 SARS 病毒 N 蛋白的多克隆抗体使之与前抗原—抗体复合物结合, 再加入第二抗体即酶标抗体, 当加入与酶标抗体的酶所对应的底物时, 酶催化底物显色, 根据颜色的有无和深浅来对 SARS 病毒 N 蛋白进行定性定量分析。

应用范围：

本产品适用于实验室检测人或动物血清中 SARS 病毒 N 蛋白。

试剂盒组成：

预包被抗 SARS N 蛋白单克隆抗体酶标板	1 块
抗 SARS 病毒 N 蛋白多克隆抗体 (1 : 5000 ~ 10000)	1 管
酶标抗体 (1 : 12000)	1 管
SARS N 蛋白标准品 (500ug/ml)	1 管
PBS-T 洗液 (20 ×)	1 瓶
样品/抗体稀释液 (10 ×)	1 瓶
底物溶液(TMB)A,B	各 1 瓶
终止液	1 瓶

检测方法：

1 加样：SARS N 蛋白标准品用 1 × 稀释液稀释成如下浓度梯度：50、25、12.5、6.25、3.125、1.56、0.78、0ng/ml (由于稀释倍数高, 请通过多步稀释达到稀释目的, 确保稀释的准确); 供



- 试样品根据需要适当用 $1 \times$ 稀释液稀释。100 μ l/孔，置 37 $^{\circ}$ C 孵育 1h。洗板三次。
- 2 加抗 SARS 病毒 N 蛋白多克隆抗体：用 $1 \times$ 稀释液 1 : 5000~10000 稀释多抗，100 μ l/孔，置 37 $^{\circ}$ C 孵育 1h，洗板三次。
- 3 加酶标抗体：用 $1 \times$ 稀释液 1 : 12000 稀释酶标抗体，100 μ l/孔，置 37 $^{\circ}$ C 孵育 1h，洗板三次。
- 4 显色：底物溶液 (TMB) A、B 按 1 : 1 比例混合后为底物使用液。每孔加底物使用液 100 μ l，置室温显色 5~10min(可根据显色情况而定)。
- 5 终止：显色适度，每孔加终止液 50 μ l 终止显色反应。
- 6 测 OD 值：用酶联免疫检测仪在波长 450nm 下进行比色测定，记录 OD 值。
- 7 结果计算：利用 CurveExpert1.3 或其他软件绘制标准曲线，根据标准曲线和样品的吸光度计算待测样品的 SARS N 蛋白浓度。

注意事项：

- 1 本试剂盒仅限于实验室检测人或动物血清中 SARS 病毒 N 蛋白。
- 2 使用前，请先将溶液平衡至室温。如浓缩液有结晶，待结晶溶解完全后使用。浓缩液均用双蒸水稀释。请将瓶中内容物混匀，启用后应尽快用完。
- 3 由于 SARS N 标准蛋白、多克隆抗体和酶标抗体体积较少，使用前请先于低温离心机短暂离心。
- 4 试剂盒中抗体的最佳稀释度，需要根据各实验室不同条件自行调整。
- 5 用微量取样器加所有组分，洗板时，每孔注液量应不少于 200 μ l，洗板次数不少于 3 次，浸泡时间不短于 30 秒，每次洗板后尽量拍干。
- 6 用底物溶液显色温度过高或时间过长，可能会出现非特异背景。建议室温显色，显色时间最长不宜超过 20 分钟。用终止液终止后请尽快完成比色测定。
- 7 本公司试剂盒勿与其他公司试剂盒混合使用，如出现异常情况不负责任。

保存条件：

贮于 -20 $^{\circ}$ C， 贮于 2 - 8 $^{\circ}$ C 有效期：6 个月

生产批号：见包装盒 生产日期：见包装

本元正阳基因技术股份有限公司