

新型冠状病毒IgG抗体滴度检测试剂盒 (新冠RBD蛋白)

(酶联免疫分析法)

【产品名称】

新型冠状病毒IgG抗体滴度检测试剂盒(新冠RBD蛋白)

【产品货号】

RAS-T024

【规格】

96 Tests

【预期用途】

本试剂盒适用于人血清中新型冠状病毒IgG抗体(新冠RBD蛋白)滴度检测。

【检测原理】

本试剂盒采用间接ELISA方法，将SARS-CoV-2 Spike RBD固定于酶标板上，封闭后洗板，加入待检测样本，孵育结束后加入辣根过氧化物酶（HRP）标记的抗人IgG的抗体，形成抗原-抗体-酶标记抗体复合物。洗板后加入底物显色液，HRP催化底物生成蓝色物质，加入终止液溶液变成黄色，在450 nm和630 nm测定其吸光度值(OD_{450 nm}、OD_{630 nm})，样本OD_{450 nm}-OD_{630 nm}与样品中的抗新型冠状病毒抗体含量呈正相关。

【产品组份】

表1.产品组份

ID	组份名称	规格 (96 T)		存储条件
----	------	-----------	--	------

				未开启	已开启
RAS024-C01	Pre-coated SARS-CoV-2 Spike RBD Microplate	1 plate	固体	2-8°C	2-8°C
RAS024-C02	Positive Control	100 µL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS024-C03	Negative Control	100 µL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS024-C04	HRP-Anti-Human IgG	200 µL	液体	2-8°C,避光	2-8°C,避光
RAS024-C05	10xWashing Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS024-C06	Dilution Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS024-C07	Substrate Solution	12 mL	液体	2-8°C,避光	2-8°C,避光
RAS024-C08	Stop Solution	7 mL	液体	2-8°C	2-8°C

【运输和储存条件】

1. 未开封：试剂盒保存于2-8°C，试剂盒自生产之日起有效期为12个月，有效期见外包装盒标签。
2. 已开封：试剂盒开封后各组分按照表1存贮条件保存，有效期自开封之日起为30天，未使用完的微孔板条需与干燥剂一起密封保存。
3. 试剂盒在室温下运输，并已经过验证。如果您需要蓝冰运输，请联系我们，但可能需要额外运费。

注：1. 不要使用过期试剂。

【需要但未提供的实验仪器与耗材】

1. 单道、多道微量移液器和移液器吸头：需满足10 µL、300 µL、1000 µL加样需求
2. 恒温培养箱
3. 酶标仪，含450 nm/630 nm波长
4. 离心管：1.5 mL、10 mL
5. 计时器
6. 试剂瓶
7. 超纯水或去离子水

【试剂准备】

使用前将所有试剂恢复至室温 (20°C-25°C)。如果溶液中有晶体形成，需平衡溶液至晶体完全溶解（可将溶液放置于恒温培养箱37°C平衡10-15 min）。

【检测流程】

1. 工作液配制

1.1 配制1×Washing Buffer: 取50 mL 10×Washing Buffer, 用超纯水/去离子水稀释并定容至500mL。

1.2 配制Positive Control工作液和Negative Control工作液: 分别用Dilution Buffer进行稀释, 建议从1:400稀释至1:12800。

1.3 将待检样品用Dilution Buffer进行稀释, 建议从1:400稀释至1:12800。

1.4 配制HRP-Anti-Human IgG工作液: 用Dilution Buffer将HRP-Anti-Human IgG进行100倍稀释, 配制好的工作液需避光保存, 尽量在使用前现配制。

2. 编号

将稀释后的待检样品对应酶标板板孔进行编号, 每次实验需设置一组 Positive Control 工作液和 Negative Control 工作液。

3. 加样

在对应板孔内加入 100 μ L 稀释后的待检样品、Positive Control 工作液和 Negative Control 工作液。

4. 孵育

用封板膜封板, 放置 37°C 恒温培养箱孵育 1.0 h。

5. 洗板

小心揭开封板膜。弃去孔中液体, 每孔加入 300 μ L 1×Washing Buffer, 浸泡 30 s。共洗板 3 次。

6. 加 HRP 酶标物

在对应板孔内加入 100 μ L 稀释后的 HRP-Anti-Human IgG 工作液, 该工作液尽量现配现用, 依次重复操作步骤 4 孵育及步骤 5 洗板。

7. 显色

将微孔板拍干，每孔加入 100 μ L Substrate Solution。用封板膜封板，放置 37°C 恒温培养箱避光孵育 20min。

8. 终止

每孔加入 50 μ L Stop Solution，轻轻震荡酶标板至混合均匀。

注：孔中液体由蓝色变为黄色。

9. 读数

若待检样本、Positive Control 和 Negative Control 是复孔或多孔加样，需计算 OD 平均值。请根据试剂盒说明书对读数结果的 OD 值进行数据分析。

【参考值】

1. 临界值（Cut-off）计算：临界值=0.1。

注：建议各实验室建立自己的参考范围。

2. 阴性对照质控标准：Negative Control（1:400）的 Mean Vaule（ $OD_{450\text{ nm}}-OD_{630\text{ nm}}$ ） <0.1 。

3. 阳性对照质控标准：Positive Control（1:400）的 Mean Vaule（ $OD_{450\text{ nm}}-OD_{630\text{ nm}}$ ） ≥ 1.5 。

注：阴阳性对照品的实验结果应符合质控标准，否则本次实验无效，建议重复实验。

【检验结果的解释】

1. 抗体阳性判定：Mean Vaule（ $OD_{450\text{ nm}}-OD_{630\text{ nm}}$ ） ≥ 0.1 ；

2. 抗体阴性判定：Mean Vaule（ $OD_{450\text{ nm}}-OD_{630\text{ nm}}$ ） <0.1 ；

3. 抗体滴度判定：将阳性样本进行梯度稀释，样本的 Mean Vaule（ $OD_{450\text{ nm}}-OD_{630\text{ nm}}$ ）仍判定为阳性时的最大稀释度。

【检测方法的局限性】

本产品仅用于检测人血清中新型冠状病毒 IgG 抗体(新冠 RBD 蛋白)滴度检测，未对半定量检测方法建立定量限（Limit of Quantitation, LoQ）、检测区间上限（Upper Limit of Measuring Interval, ULMI）和临界值（Cut-off），如果使用者计划进行半定量检测，建议根据需要自行建立半定量检测方法。

【注意事项】

1. 本产品仅供科研使用，不能用于治疗 and 诊断。
2. 请严格按使用说明进行操作。
3. 不同厂家及同一厂家不同批号试剂盒的组份不能混用。
4. 使用前各组份需平衡至室温，保证溶液晶体全部溶解。请在洁净的环境下进行操作使用。
5. 试剂盒请在 2-8°C 保存，请勿使用过有效期的试剂盒。
6. 请根据实验需要配制各组份工作液，除 1xWashing Buffer 以外，工作液即配即用，不可保存。