

新型冠状病毒IgG抗体(小鼠)滴度检测试剂盒(Spike Trimer)

(酶联免疫分析法)

【产品名称】

新型冠状病毒IgG抗体(小鼠)滴度检测试剂盒(Spike Trimer)

【货号】

RAS-T023

【规格】

96 Tests

【预期用途】

本试剂盒用于检测小鼠血清样本中新型冠状病毒IgG抗体(Spike Trimer)，适用于抗体定性和滴度检测。

【检测原理】

本试剂盒采用间接ELISA方法，将SARS-CoV-2 Spike Protein 固定于酶标板上，加入待检测样本，孵育结束后加入辣根过氧化物酶（HRP）标记抗体，形成抗原-抗体-酶标记抗体复合物。用底物显色，随后用终止液终止，板孔中溶液会由蓝色变为黄色。使用酶标仪在450 nm和630 nm测定其吸光度值（OD_{450 nm}、OD_{630 nm}），OD_{450 nm}-OD_{630 nm}与样本中新型冠状病毒IgG抗体(Spike Trimer)的含量呈正相关。

【产品组份】

表1.产品组份

ID	组份名称	规格 (96 T)	物理状态	存储条件	
				未开启	已开启
RAS023-C01	Pre-coated with SARS-CoV-2 Spike Protein Microplate	1 plate	固体	2-8°C	2-8°C
RAS023-C02	Anti-SARS-CoV-2 Antibody (Control, Mouse IgG)	100 µL	液体	2-8°C	2-8°C

1 / 5

RAS023-C03	HRP-Conjugated Antibody	10 µg	冻干粉	2-8°C, 避光	-70°C, 避光
RAS023-C04	10×Washing Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS023-C05	Dilution Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS023-C06	Substrate Solution	12 mL	液体	2-8°C, 避光	2-8°C, 避光
RAS023-C07	Stop Solution	7 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS023-C08	SARS-CoV-2 Positive Control	100 µL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS023-C09	SARS-CoV-2 Negative Control	100 µL	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，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：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】

按照表2建议，用超纯水将所提供的冻干品配制成存储溶液，在室温下溶解15至30分钟，偶尔轻轻震荡。避免剧烈摇动或涡旋。重构的存储液应在-70°C保存，建议冻融次数不要超过3次。

为避免表面吸附性损失和失活，每个小瓶中分装的重组蛋白不得少于5 µg。使用前所有试剂恢复至室温 (20°C-25°C)。如果溶液中有结晶形成，需平衡至室温至晶体完全溶解。

注：HRP-标记抗体存储溶液应避光保存。

表2. 配制方法

ID	组份名称	规格 (96 T)	存储液浓度.	重构水体积 Vol.
RAS023-C03	HRP-Conjugated Antibody	10 µg	50 µg/mL	200 µL

【检测流程】

1. 工作液准备

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500 mL。

1.2 配制Positive Control工作液和Negative Control工作液，样本前处理:

a. 若用于抗体定性检测: 将待检样本、Positive Control和Negative Control用Dilution Buffer稀释至1:100。

b. 若用于抗体滴度检测或半定量检测:

b.1 建议将待检样本用Dilution Buffer从1:100-10000进行稀释待检;

b.2 若进行滴度检测: 建议将Positive Control和Negative Control用Dilution Buffer从1:100-1:10000进行稀释;

若用于半定量实验: 建议将质控品Anti-SARS-CoV-2 Antibody (Control, Mouse IgG) 用Dilution Buffer进行稀释，稀释范围0.2-6.25 ng/mL。

注: Anti-SARS-CoV-2 Antibody (Control, Mouse IgG)的浓度为 100 µg/mL。

2. 加样

a. 若用于抗体定性或抗体滴度检测:

在对应板孔内加入 100 µL 稀释后的样本、Positive Control 工作液和 Negative Control 工作液。空白对照孔加入 100 µL Dilution Buffer。用封板膜封板,轻轻震荡混匀，放置 37°C 孵育 1.0 h。

b. 若用于半定量检测:

在对应板孔内加入 100 µL 稀释后的样本和稀释后的质控品 Anti-SARS-CoV-2 Antibody (Control,

Mouse IgG) (稀释范围 0.2-6.25 ng/mL)。空白对照孔加入 100 μ L Dilution Buffer。用封板膜封板,轻轻震荡混匀, 放置 37°C 孵育 1.0 h。

注: 此步骤需连续操作, 切勿间隔时间较长, 以免影响结果。

3. 洗板

弃去孔中液体, 拍干酶标板, 用 1 \times Washing Buffer 洗板, 300 μ L/孔浸泡 30 s, 拍干酶标板, 进行下一次清洗, 共洗板 3 次。最后一次洗板后将微孔板拍干。

4. 加 HRP 酶标物

用样品稀释液将 HRP-Conjugated Antibody 存储液稀释至 0.08 μ g/mL, 每孔加入 100 μ L, 用封板膜封板, 放置 37°C 孵育 1.0 h。

注: HRP 酶标物需现配现用, 不可保存。

5. 洗板

重复步骤 3 洗板 3 次。

6. 显色

每孔加入 100 μ L Substrate Solution, 用封板膜封板, 放置 37°C 避光孵育 20 min。

7. 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。

8. 读数

用酶标仪测定各孔在 OD_{450 nm} 和 OD_{630 nm} 波长的吸光值, 请在终止 3 分钟内读数。

注: 各孔 OD_{450 nm} 扣除 OD_{630 nm} 读值可降低背景干扰。

【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 (1:100) OD_{450 nm}-OD_{630 nm}<0.1。

3. 阳性对照质控标准: Positive Control (1:400) OD_{450 nm}-OD_{630 nm}≥0.5。

【检测结果的解释】

a. 抗体定性检测

1. 阳性样本检测：样本 $OD_{450\text{nm}} \geq$ 临界值（Cut-off），检测到样本中含有新型冠状病毒 IgG 抗体 (Spike Protein)。
2. 阴性样本检测：样本 $OD_{450\text{nm}} <$ 临界值（Cut-off），未检测到样本中含有新型冠状病毒 IgG 抗体(Spike Protein)。

b. 抗体滴度检测

抗体滴度的判定：将阳性样本进行梯度稀释，检测样本结果仍判定为阳性时的最大稀释度。

c. 抗体半定量检测

将标准曲线和待测样品的 OD 值，扣减空白孔的 OD 值后得到校准的吸光度值。以标准品的浓度为横坐标，用校准的吸光度值为纵坐标，绘制标准曲线。利用四参数或者其他统计学软件进行绘制标准曲线并进行样品浓度的计算。

注：结果仅供参考。

【检测方法的局限性】

本试剂盒不做新型冠状病毒 IgG 抗体定量检测。

【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. 不同批号的试剂不能混用。不可与其他厂家试剂混用；
4. 使用前各组份需平衡至室温，保证溶液晶体全部溶解。请在无尘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，工作液即配即用，不可保存。