新型冠状病毒(B.1.617.2)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(B.1.617.2)IgG抗体滴度检测试剂盒(新冠RBD蛋白)

【货号】

RAS-T042

【规格】

96 Tests

【预期用途】

本试剂盒用于检测人血清样本中新型冠状病毒(B.1.617.2)IgG抗体(Spike RBD)，适用于抗体滴度检测。

【检测原理】

本试剂盒应用ELISA间接法。微孔板预包被SARS-CoV-2 Spike RBD(B.1.617.2)，样本中的Anti-SARS-CoV-2 IgG Antibody与微孔板上固定的SARS-CoV-2 Spike RBD(B.1.617.2)结合，然后加入HRP-Anti-Human IgG，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处测定样本吸光度值($OD_{450\ nm}$、$OD_{630\ nm}$)。样本$OD_{450\ nm}$-$OD_{630\ nm}$与样本中新型冠状病毒IgG抗体(Spike RBD)的含量呈正相关。

US and Canada: Tel: +1 800-810-0816
Asia and Pacific: Tel: +86 400-682-2521
Web: http://www.acrobiosystems.com
E-mail: order@acrobiosystems.com

【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
RAS042-C01	Pre-coated SARS-CoV-2 Spike RBD(B.1.617.2) Microplate	1 plate	固体	2-8°C	2-8°C
RAS042-C02	Positive Control	100 μL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS042-C03	Negative Control	100 μL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS042-C04	HRP-Anti-Human IgG	200 μL	液体	2-8°C，避光	2-8°C，避光
RAS042-C05	10xWashing Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS042-C06	Dilution Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS042-C07	Substrate Solution	12 mL	液体	2-8°C，避光	2-8°C，避光
RAS042-C08	Stop Solution	7 mL	液体	2-8°C	2-8°C

【储存条件及有效期】

未开封：试剂盒保存于2-8℃，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。

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。

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

US and Canada: **Tel**: +1 800-810-0816
Asia and Pacific: **Tel**: +86 400-682-2521
Web: http://www.acrobiosystems.com
E-mail: order@acrobiosystems.com

5. 计时器

6. 试剂瓶

7. 超纯水或去离子水

【样本处理】

1. 热灭活：将样本置于56℃的水浴锅中加热30 min。

注：样本在56℃下放置时间不得超过1.0 h。

2. 平衡至室温：将样本放置在室温条件（20-25℃）下平衡30 min以上，并混合均匀。

3. 保存：样本如需保存，请将样本分装冻存于-20或-80℃冰箱，避免反复冻融。

注： ***a. 样本在用于本试验前必须进行热灭活。***

b. 样本溶血会影响检测结果，溶血样本不适合用于本试剂盒的检测。

c. 未使用本试剂盒对人血浆或全血样本建立检测方法，建议使用者根据需要自行建立检测方法。

【试剂准备】

使用前将所有试剂恢复至室温 (20℃-25℃)。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℃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500 mL。

1.2 配制HRP-Anti-Human IgG工作液：用Dilution Buffer将HRP-Anti-Human IgG进行200倍稀释。工作液需避光保存，现用现配。

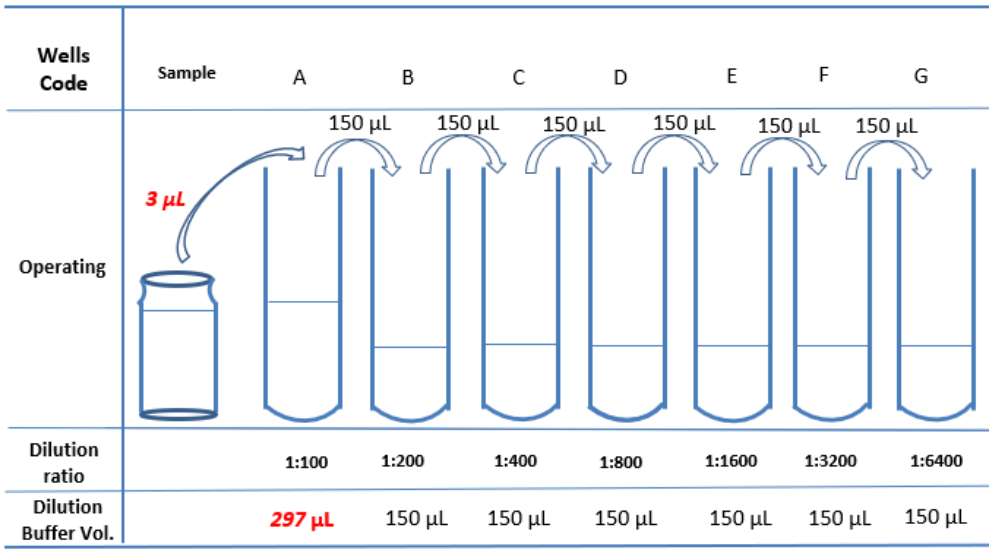
2. 加样

US and Canada: Tel: +1 800-810-0816
Asia and Pacific: Tel: +86 400-682-2521
Web: http://www.acrobiosystems.com
E-mail: order@acrobiosystems.com

2.1 样本处理：

可参考图1的稀释方式，使用Dilution Buffer将待检样本从1:100-1:6400进行2倍稀释。如果待检样本超出上述建议的稀释区间，建议增加稀释倍数，重新检测。

图 1.样本稀释方式(具体用量请根据实验方案进行调整)



2.2 配制Positive Control工作液和Negative Control工作液：

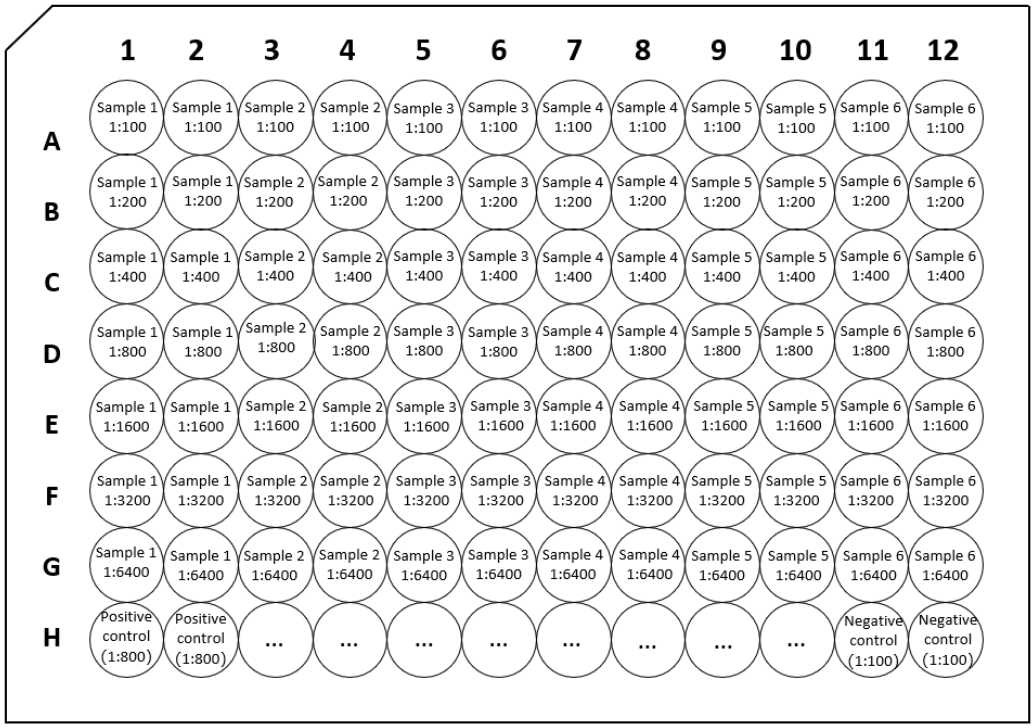
使用Dilution Buffer将Positive Control稀释800倍，Negative Control稀释100倍。

2.3 加样：

可参考图 2 的排布方式进行加样，每孔加样体积为 100 μL，建议待检样本、Positive Control 和 Negative Control 进行复孔加样。

US and Canada: Tel: +1 800-810-0816
Asia and Pacific: Tel: +86 400-682-2521
Web: http://www.acrobiosystems.com
E-mail: order@acrobiosystems.com

图 2.微孔板样本排布方式



3. 孵育

用封板膜封板，放置 37℃恒温培养箱孵育 1.0 h。

4. 洗板

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

5. 加 HRP 酶标物

在对应板孔内加入 100 μL 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 3 孵育及步骤 4 洗板。

6. 显色

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

7. 终止

每孔加入 50 μL 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。

US and Canada: Tel: +1 800-810-0816
Asia and Pacific: Tel: +86 400-682-2521
Web: http://www.acrobiosystems.com
E-mail: order@acrobiosystems.com

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。

9. 数据分析

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。
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（1:800）$OD_{450\ nm}$-$OD_{630\ nm}$≥1.5。

注：建议各实验室建立自己的参考范围

【检测结果的解释】

1. 抗体阳性判定：$OD_{450\ nm}$-$OD_{630\ nm}$≥0.1，检测到新型冠状病毒(B.1.617.2)IgG 抗体(Spike RBD)。
2. 抗体阴性判定：$OD_{450\ nm}$-$OD_{630\ nm}$＜0.1，未检测到新型冠状病毒(B.1.617.2)IgG 抗体(Spike RBD)。
3. 抗体滴度判定：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。

【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。

【产品性能】

1. 精密度：批内差 CV%＜15%

   批间差 CV%＜15%
2. 特异性：98.6%（144 份阴性血清，2 份检测为阳性）。

US and Canada: Tel: +1 800-810-0816
Asia and Pacific: Tel: +86 400-682-2521
Web: http://www.acrobiosystems.com
E-mail: order@acrobiosystems.com

【注意事项】

1. 本产品仅供科研使用，不能用于治疗和诊断。
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℃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分工作液，除 Washing Buffer 以外，工作液即配即用，不可保存。

【示例数据】

抗体滴度检测

注：不同板间的质控数据不能混用。每次测定均需设置阴性、阳性对照。

稀释倍数	样本 $OD_{450\ nm}$-$OD_{630\ nm}$	Result
100	3.11	**抗体滴度为 102400**
200	3.07	
400	3.061	
800	2.781	
1600	2.51	
3200	1.652	
6400	1.043	
12800	0.586	
25600	0.331	
51200	0.183	
102400	**0.123**	
204800	0.084	
Blank	0.052	

US and Canada: **Tel**: +1 800-810-0816
Asia and Pacific: **Tel**: +86 400-682-2521
Web: http://www.acrobiosystems.com
E-mail: order@acrobiosystems.com