

## 新型冠状病毒IgG抗体(小鼠)滴度检测试剂盒(Spike S1)

### (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 S1)

#### 【货号】

RAS-T045

#### 【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 S1)，适用于抗体定性、滴度和半定量检测。

#### 【检测原理】

本试剂盒采用间接ELISA方法，将SARS-CoV-2 Spike S1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处测定样本吸光度值(OD<sub>450 nm</sub>、OD<sub>630 nm</sub>)。样本OD<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub>与样本中新型冠状病毒IgG抗体(Spike S1)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   |
| RAS045-C01 | Pre-coated SARS-CoV-2 Spike S1 Microplate     | 1 plate  | 固体   | 2-8°C | 2-8°C |
| RAS045-C02 | Anti-SARS-CoV-2 Antibody (Control, Mouse IgG) | 100 µL   | 液体   | 2-8°C | 2-8°C |

|            |                                      |             |     |                      |                      |
|------------|--------------------------------------|-------------|-----|----------------------|----------------------|
| RAS045-C03 | SARS-CoV-2 Antibody Positive Control | 100 $\mu$ L | 液体  | 2-8 $^{\circ}$ C     | 2-8 $^{\circ}$ C     |
| RAS045-C04 | SARS-CoV-2 Antibody Negative Control | 100 $\mu$ L | 液体  | 2-8 $^{\circ}$ C     | 2-8 $^{\circ}$ C     |
| RAS045-C05 | HRP-Conjugated Antibody              | 10 $\mu$ g  | 冻干粉 | 2-8 $^{\circ}$ C, 避光 | -70 $^{\circ}$ C, 避光 |
| RAS045-C06 | 10 x Washing Buffer                  | 50 mL       | 液体  | 2-8 $^{\circ}$ C     | 2-8 $^{\circ}$ C     |
| RAS045-C07 | Dilution Buffer                      | 50 mL       | 液体  | 2-8 $^{\circ}$ C     | 2-8 $^{\circ}$ C     |
| RAS045-C08 | Substrate Solution                   | 12 mL       | 液体  | 2-8 $^{\circ}$ C, 避光 | 2-8 $^{\circ}$ C, 避光 |
| RAS045-C09 | Stop Solution                        | 7 mL        | 液体  | 2-8 $^{\circ}$ C     | 2-8 $^{\circ}$ C     |

## 【保存条件】

未开封：试剂盒保存于2-8 $^{\circ}$ C，有效期见外包装标签。

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  $\mu$ L、300  $\mu$ L、1000  $\mu$ L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 $^{\circ}$ 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  $\mu$ g。

注: HRP-Conjugated Antibody 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. |
|------------|-------------------------|-----------|----------|------------|
| RAS045-C05 | HRP-Conjugated Antibody | 10 µg     | 50 µg/mL | 200 µL     |

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, 需平衡至室温直至晶体完全溶解。

## 【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、待检样本前处理:

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: 建议将待检样本、Positive Control和Negative Control用Dilution Buffer从1:100-1:51200进行稀释。

c. 若用于抗体半定量检测: 在实验中, 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0.098-3.125 ng/mL。

注: 质控品浓度可见于试管标签。

### 2. 编号

将稀释后的样本对应酶标板板孔进行编号, 每次实验需设置 Positive Control 工作液、Negative Control 工作液、空白对照各一组。

### 3. 加样

在对应板孔内先加入 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。此步骤需连续操作, 切勿间隔时间较长, 以免影响结果。

#### 4. 洗板

弃去孔中液体，拍干酶标板，用 1×Washing Buffer 洗板，300 μL/孔浸泡 30 s，拍干酶标板，进行下一次清洗，共洗板 3 次。

#### 5. 加 HRP 酶标物

用样品稀释液将 HRP-Conjugated Antibody 存储液稀释至 0.08 μg/mL，每孔加入 100 μL，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。*

#### 6. 洗板

重复步骤 4 洗板 3 次。

#### 7. 显色

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

#### 8. 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。*

#### 9. 读数

用酶标仪测定各孔在 OD<sub>450 nm</sub> 和 OD<sub>630 nm</sub> 波长的吸光值，请在终止 3 分钟内读数。

*注：各孔 OD<sub>450 nm</sub> 扣除 OD<sub>630 nm</sub> 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。
2. 阴性对照质控标准：Negative Control (1:100) OD<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub><0.1。
3. 阳性对照质控标准：Positive Control (1:3200) OD<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub>≥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<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub>≥0.1；
2. 抗体阴性判定：OD<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub><0.1；

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。
4. 抗体的半定量检测：以标准品的浓度为横坐标， $OD_{450\text{ nm}}-OD_{630\text{ nm}}$  为纵坐标，绘制标准曲线。为了校准标准曲线所获得的吸光度值，可将待测样品的 OD 值减去空白对照的 OD 值。利用直线回归分析方法进行绘制标准曲线并进行样品浓度的计算。

### 【检测方法的局限性】

本产品仅用于检测小鼠血清样本中 Anti-SARS-CoV-2 IgG 抗体(Spike S1)，不能用于抗体定量检测。

### 【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。