新型冠状病毒IgM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IgM抗体滴度检测试剂盒(新冠RBD蛋白)

【货号】

RAS-T052

【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IgM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IgM 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值），OD 值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)	物理状态	存储条件	
				未开启	已开启
RAS052-C01	Pre-coated SARS-CoV-2 Spike RBD Microplate	1 plate	固体	2-8°C	2-8°C
RAS052-C02	Positive Control	100 µL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS052-C03	Negative Control	100 µL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS052-C04	HRP-Anti-Human IgM	100 µL	液体	2-8°C,避光	2-8°C,避光

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

RAS052-C05	10xWashing Buffer	50 mL	液体	2-8℃	2-8℃
RAS052-C06	Dilution Buffer	50 mL	液体	2-8℃	2-8℃
RAS052-C07	Substrate Solution	12 mL	液体	2-8℃,避光	2-8℃,避光
RAS052-C08	Stop Solution	7 mL	液体	2-8℃	2-8℃

【储存条件及有效期】

1. 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。
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。

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

【样本要求】

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。

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

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1:50稀释至1:6400。

1.3 将待检样品用Dilution Buffer进行稀释，建议从1:50稀释至1:6400。

1.4 配制HRP-Anti-Human IgM工作液：用Dilution Buffer将HRP-Anti-Human IgM进行1000倍稀释。工作液需现用现配，配制好的工作液避光待用。

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 μL 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℃恒温培养箱孵育 1.0 h。

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. 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。最后一次洗板后将微孔板拍干。

6. 加 HRP 酶标物

在对应板孔内加入 100 μL 稀释后的 HRP-Anti-Human IgM 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 μL Substrate Solution。用封板膜封板，放置 37℃恒温培养箱避光孵育 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 450 nm 和 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。

【阳性判断值】

1. 临界值（Cut-off ）计算：临界值=0.150。
2. 阴性对照质控标准：Negative Control（1:50）$OD_{450\ nm}$-$OD_{630\ nm}$＜0.150。
3. 阳性对照质控标准：Positive Control（1:200）$OD_{450\ nm}$-$OD_{630\ nm}$≥1.500。

注: 建议各实验室建立自己的参考范围

【检验结果的解释】

1. 阳性样本检测：$OD_{450\ nm}$-$OD_{630\ nm}$≥0.15，检测到样本中含有新型冠状病毒 IgM 抗体(新冠 RBD 蛋白)。
2. 阴性样本检测：$OD_{450\ nm}$-$OD_{630\ nm}$＜0.15，未检测到样本中含有新型冠状病毒 IgM 抗体(新冠 RBD 蛋白)。
3. 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。

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

【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 IgM 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】

注:示例数据仅供参考，请以实际检测数据为准。

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
50	2.271	**抗体滴度为 3200**
100	2.269	
200	2.266	
400	1.467	
800	0.794	
1600	0.415	
3200	**0.258**	
6400	0.125	
blank	0.070	

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