

人新型冠状病毒 (BA.5) 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】

人新型冠状病毒 (BA.5) IgG抗体滴度检测试剂盒(新冠RBD蛋白)

【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(BA.5)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(BA.5)，样本中的Anti-SARS-CoV-2 IgG Antibody与微孔板上固定的SARS-CoV-2 Spike RBD(BA.5)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。

【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

RAS134-C01	Pre-coated SARS-CoV-2 Spike RBD (BA.5) Microplate	1 plate	固体	2-8°C	2-8°C
RAS134-C02	SARS-CoV-2 Antibody Positive Control	100 µL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS134-C03	SARS-CoV-2 Antibody Negative Control	100 µL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS134-C04	HRP-Anti-Human IgG	100 µL	液体	2-8°C, 避光	2-8°C, 避光
RAS134-C05	10xWashing Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS134-C06	Dilution Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS134-C07	Substrate Solution	12 mL	液体	2-8°C, 避光	2-8°C, 避光
RAS134-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°C，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存储条件保存，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

【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500 mL。

1.2 配制HRP-Anti-Human IgG工作液: 用Dilution Buffer将HRP-Anti-Human IgG进行1000倍稀释, 工作液需避光保存, 现用现配。

2. 加样

2.1 样本处理:

可参考表2的稀释方式, 使用Dilution Buffer将待检样本从1:200-1:12800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。

表 2. 样本稀释方式(具体用量请根据实验方案进行调整)

Wells Code	Sample	A	B	C	D	E	F	G
Operating	2 μ L	150 μ L	150 μ L	150 μ L	150 μ L	150 μ L	150 μ L	150 μ L
Dilution ratio		1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:12800
Dilution Buffer Vol.		398 μ L	150 μ L	150 μ L	150 μ L	150 μ L	150 μ L	150 μ L

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

使用Dilution Buffer将Positive Control稀释1600倍， Negative Control稀释200倍。

2.3 加样:

可参考表3的排布方式进行加样，每孔加样体积为100 μ L，建议待检样本、Positive Control和Negative Control进行复孔加样。

表 3.微孔板样本排布方式

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Sample 1 1:200	Sample 1 1:200	Sample 2 1:200	Sample 2 1:200	Sample 3 1:200	Sample 3 1:200	Sample 4 1:200	Sample 4 1:200	Sample 5 1:200	Sample 5 1:200	Sample 6 1:200	Sample 6 1:200
B	Sample 1 1:400	Sample 1 1:400	Sample 2 1:400	Sample 2 1:400	Sample 3 1:400	Sample 3 1:400	Sample 4 1:400	Sample 4 1:400	Sample 5 1:400	Sample 5 1:400	Sample 6 1:400	Sample 6 1:400
C	Sample 1 1:800	Sample 1 1:800	Sample 2 1:800	Sample 2 1:800	Sample 3 1:800	Sample 3 1:800	Sample 4 1:800	Sample 4 1:800	Sample 5 1:800	Sample 5 1:800	Sample 6 1:800	Sample 6 1:800
D	Sample 1 1:1600	Sample 1 1:1600	Sample 2 1:1600	Sample 2 1:1600	Sample 3 1:1600	Sample 3 1:1600	Sample 4 1:1600	Sample 4 1:1600	Sample 5 1:1600	Sample 5 1:1600	Sample 6 1:1600	Sample 6 1:1600
E	Sample 1 1:3200	Sample 1 1:3200	Sample 2 1:3200	Sample 2 1:3200	Sample 3 1:3200	Sample 3 1:3200	Sample 4 1:3200	Sample 4 1:3200	Sample 5 1:3200	Sample 5 1:3200	Sample 6 1:3200	Sample 6 1:3200
F	Sample 1 1:6400	Sample 1 1:6400	Sample 2 1:6400	Sample 2 1:6400	Sample 3 1:6400	Sample 3 1:6400	Sample 4 1:6400	Sample 4 1:6400	Sample 5 1:6400	Sample 5 1:6400	Sample 6 1:6400	Sample 6 1:6400
G	Sample 1 1:12800	Sample 1 1:12800	Sample 2 1:12800	Sample 2 1:12800	Sample 3 1:12800	Sample 3 1:12800	Sample 4 1:12800	Sample 4 1:12800	Sample 5 1:12800	Sample 5 1:12800	Sample 6 1:12800	Sample 6 1:12800
H	Positive control (1:1600)	Positive control (1:1600)	Negative control (1:200)	Negative control (1:200)

3. 孵育

用封板膜封板，放置 37 $^{\circ}$ C 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 μ L 1 \times 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 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 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°C 恒温培养箱避光孵育 20min。

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。

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 (1:200) OD_{450 nm}-OD_{630 nm}<0.1。
3. 阳性对照质控标准：Positive Control (1:1600) 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】

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: 100% (72 份阴性血清, 0 份检测为阳性)。

【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分工作液, 除 Washing Buffer 以外, 工作液即配即用, 不可保存。