

人新型冠状病毒 (XBB.1.5) 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 (XBB.1.5) IgG抗体滴度检测试剂盒 (新冠RBD蛋白)

【货号】

RAS-T138

【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 (XBB.1.5) IgG抗体，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 RBD(XBB.1.5)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）标记的抗人IgG的抗体，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_{450 nm}、OD_{630 nm})。样本OD_{450 nm}-OD_{630 nm}的响应值与样本中新型冠状病毒 (XBB.1.5)IgG抗体的含量呈正相关。

【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 |
| RAS138-C01 | Pre-coated SARS-CoV-2 Spike RBD (XBB.1.5) Microplate | 1 plate | 固体 | 2-8°C | 2-8°C |

| | | | | | |
|------------|--------------------------------------|-------------|----|----------------------|----------------------|
| RAS138-C02 | SARS-CoV-2 Antibody Positive Control | 100 μ L | 液体 | 2-8 $^{\circ}$ C | 2-8 $^{\circ}$ C |
| RAS138-C03 | SARS-CoV-2 Antibody Negative Control | 100 μ L | 液体 | 2-8 $^{\circ}$ C | 2-8 $^{\circ}$ C |
| RAS138-C04 | HRP-Conjugated Antibody | 50 μ L | 液体 | 2-8 $^{\circ}$ C, 避光 | 2-8 $^{\circ}$ C, 避光 |
| RAS138-C05 | 10 \times Washing Buffer | 50 mL | 液体 | 2-8 $^{\circ}$ C | 2-8 $^{\circ}$ C |
| RAS138-C06 | Dilution Buffer | 50 mL | 液体 | 2-8 $^{\circ}$ C | 2-8 $^{\circ}$ C |
| RAS138-C07 | Substrate Solution | 12 mL | 液体 | 2-8 $^{\circ}$ C, 避光 | 2-8 $^{\circ}$ C, 避光 |
| RAS138-C08 | 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，试剂盒自生产之日起有效期为12个月，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 μ L、300 μ L、1000 μ 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】

使用前所有试剂恢复至室温 (20 $^{\circ}$ C-25 $^{\circ}$ 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1:200。

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1:200-1:25600进行稀释。

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。

3. 加样

在对应板孔内先加入 100 μ L 稀释后的样本、Positive Control 工作液和 Negative Control 工作液。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 μ L/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 Dilution Buffer 将 HRP-Conjugated Antibody 进行 2000 倍稀释,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。

6. 洗板

重复步骤 4 洗板 3 次。

7. 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。

8. 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。

9. 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。
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 (1:800) 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；
2. 抗体阴性判定：OD_{450 nm}-OD_{630 nm}<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。

【检测方法的局限性】

本产品仅用于检测人血清样本中新型冠状病毒 (XBB.1.5) IgG 抗体，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分工作液，除 1xWashing Buffer 以外，工作液即配即用，不可保存。

【示例数据】

a. 抗体定性检测

| 检测结果 | 结果判定 | 检测结果解释 |
|---|------|----------------------------|
| 样本OD _{450 nm} -OD _{630 nm} =0.056 | 阴性 | 未检测到新型冠状病毒 (XBB.1.5) IgG抗体 |
| 样本OD _{450 nm} -OD _{630 nm} =0.701 | 阳性 | 检测到新型冠状病毒 (XBB.1.5) IgG抗体 |

b. 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。此数据仅供参考。

| 稀释倍数 | 样本 OD _{450 nm} -OD _{630 nm} | 结果 |
|--------------|---|--------------------|
| 200 | 3.179 | 抗体滴度为 25600 |
| 400 | 3.083 | |
| 800 | 2.440 | |
| 1600 | 1.555 | |
| 3200 | 0.908 | |
| 6400 | 0.491 | |
| 12800 | 0.252 | |
| 25600 | 0.133 | |
| 51200 | 0.062 | |
| Blank | 0.018 | |