

人新型冠状病毒 (BF.7) IgA2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(BF.7)IgA2抗体滴度检测试剂盒(新冠RBD蛋白)

【货号】

RAS-T154

【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 (BF.7) IgA2抗体(新冠RBD蛋白), 适用于抗体滴度检测。

【检测原理】

本试剂盒采用间接ELISA方法, 将SARS-CoV-2 Spike RBD(BF.7)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IgA2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}与样本中新型冠状病毒(BF.7) IgA2抗体(Spike RBD)的含量呈正相关。

【产品组份】

表1.产品组份

	组份名称	规格(96 T)	物理状态	存储条件	
				未开启	已开启
RAS154-C01	Pre-coated SARS-CoV-2 Spike RBD (BF.7) Microplate	1 plate	固体	2-8°C	2-8°C
RAS154-C02	Anti-SARS-CoV-2 Antibody (Control, IgA2)	100 µL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS154-C03	HRP-Anti-Human IgA2	50 µL	液体	2-8°C, 避光	2-8°C, 避光
RAS154-C04	10xWashing Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS154-C05	Dilution Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS154-C06	Substrate Solution	12 mL	液体	2-8°C, 避光	2-8°C, 避光
RAS154-C07	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

【试剂准备】

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 待检样本前处理和配制质控品(Control, IgA2)工作液:

a. 建议将待检样本用Dilution Buffer从1:50-1:6400进行稀释。

b. 建议将质控品Anti-SARS-CoV-2 Antibody (Control, IgA2)用Dilution Buffer进行稀释，稀释范围250-7.8 ng / mL。

注: Anti-SARS-CoV-2 Antibody (Control, IgA2)的浓度可见于管签，浓度为 50 µg/mL。

2. 编号

将稀释后的样本对应酶标板板孔进行编号，每次实验需设置空白对照孔，建议做复孔。

3. 加样

在对应板孔内先加入 100 µL 稀释后的样本、稀释后的质控品 Anti-SARS-CoV-2 Antibody (Control, IgA2)，空白对照孔可加 100 µL 的 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Dilution Buffer将HRP-Anti-Human IgA2进行1000倍稀释，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 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} 读数可降低背景干扰。

【参考值】

1. 临界值(Cut-off)计算：临界值=0.1。

2. 质控品质控标准：Control, IgA2 (125 ng/mL) OD_{450 nm}-OD_{630 nm} \geq 1.0。

注：建议各实验室建立自己的参考范围。

【检测结果的解释】

- 阳性结果判断：样本 OD_{450 nm}-OD_{630 nm} \geq 临界值 (Cut-off)，判定样本为新型冠状病毒 IgA2 抗体(Spike RBD)阳性。
- 阴性结果判断：样本 OD_{450 nm}-OD_{630 nm} < 临界值 (Cut-off)，判定样本为新型冠状病毒 IgA2 抗体(Spike RBD)阴性。
- 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(BF.7)IgA2 抗体(新冠 RBD 蛋白)，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 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, 除 1xWashing Buffer 以外, 工作液即配即用, 不可保存。