

小鼠新型冠状病毒 (B.1.351) IgG抗体滴度检测试剂盒 (新冠Spike蛋白)

(酶联免疫分析法)

【产品名称】

小鼠新型冠状病毒 (B.1.351) IgG抗体滴度检测试剂盒 (新冠Spike蛋白)

【货号】

RAS-T155

【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 (B.1.351) IgG抗体(新冠Spike蛋白), 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 Trimer (B.1.351) 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) 标记的抗小鼠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}与样本中新型冠状病毒(B.1.351) IgG抗体(Spike Trimer)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
RAS155-C01	Pre-coated SARS-CoV-2 Spike Trimer (B.1.351) Microplate	1 plate	固体	2-8°C	2-8°C
RAS155-C02	SARS-CoV-2 Antibody Positive Control	100 µL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS155-C03	SARS-CoV-2 Antibody Negative Control	100 µL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS155-C04	HRP-Conjugated Antibody	50 µL	液体	2-8°C, 避光	2-8°C, 避光
RAS155-C05	10 x Washing Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS155-C06	Dilution Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS155-C07	Substrate Solution	12 mL	液体	2-8°C, 避光	2-8°C, 避光
RAS155-C08	Stop Solution	7 mL	液体	2-8°C	2-8°C

【保存条件】

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：试剂盒开封后各组份按照表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 x Washing Buffer:

取50 mL 10 x Washing Buffer，用超纯水/去离子水稀释并定容至500 mL。

1.2 配制SARS-CoV-2 Antibody Positive Control工作液和SARS-CoV-2 Antibody 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、SARS-CoV-2 Antibody Positive Control和SARS-CoV-2 Antibody 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1:100-1:25600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 SARS-CoV-2 Antibody Positive Control 工作液、SARS-CoV-2 Antibody 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、SARS-CoV-2 Antibody Positive Control 工作液和 SARS-CoV-2 Antibody 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。最后一次洗板后将微孔板拍干。

5. 加 HRP 酶标物

用 Dilution Buffer 将 HRP-Conjugated Antibody 稀释 1000 倍，每孔加入 100 μ L，用封板膜封板，放置 37°C 孵育 1.0 h。

注：HRP 酶标物工作液需现配现用，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 (1:100) 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. 阳性样本检测： $OD_{450\text{ nm}}-OD_{630\text{ nm}} \geq 0.1$ ，检测到样本中含有新型冠状病毒 (B.1.351) IgG 抗体 (新冠 Spike 蛋白)；
2. 阴性样本检测： $OD_{450\text{ nm}}-OD_{630\text{ nm}} < 0.1$ ，未检测到样本中含有新型冠状病毒 (B.1.351) IgG 抗体 (新冠 Spike 蛋白)；
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】

本产品仅用于检测小鼠血清样本中新型冠状病毒(B.1.351) IgG 抗体(新冠 Spike 蛋白)，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，除 1xWashing 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。

a. 抗体定性检测

检测结果	结果分析	检测结果解释
样本 $OD_{450\text{ nm}}-OD_{630\text{ nm}}=0.042$	阴性	未检测到新型冠状病毒(B.1.351)IgG抗体(Spike Trimer)
样本 $OD_{450\text{ nm}}-OD_{630\text{ nm}}=0.307$	阳性	检测到新型冠状病毒(B.1.351)IgG抗体(Spike Trimer)

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。

稀释倍数	样本 OD _{450 nm} -OD _{630 nm}	Result
100	3.278	抗体滴度为 25600
200	3.213	
400	2.953	
800	2.657	
1600	1.706	
3200	0.839	
6400	0.461	
12800	0.269	
25600	0.121	
51200	0.068	
Blank	0.015	