

## 新型冠状病毒(B.1.617.2)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】

新型冠状病毒(B.1.617.2)IgG抗体滴度检测试剂盒(新冠Spike蛋白)

### 【货号】

RAS-T043

### 【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(B.1.617.2)IgG抗体(Spike Trimer), 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 Trimer(B.1.617.2), 样本中的Anti-SARS-CoV-2 IgG Antibody与微孔板上固定的SARS-CoV-2 Spike Trimer(B.1.617.2)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<sub>450 nm</sub>, OD<sub>630 nm</sub>)。样本OD<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub>与样本中新型冠状病毒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
RAS043-C01	Pre-coated SARS-CoV-2 Spike Trimer (B.1.617.2) Microplate	1 plate	固体	2-8°C	2-8°C
RAS043-C02	Positive Control	100 µL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS043-C03	Negative Control	100 µL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS043-C04	HRP-Anti-Human IgG	200 µL	液体	2-8°C, 避光	2-8°C, 避光
RAS043-C05	10xWashing Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS043-C06	Dilution Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS043-C07	Substrate Solution	12 mL	液体	2-8°C, 避光	2-8°C, 避光
RAS043-C08	Stop Solution	7 mL	液体	2-8°C	2-8°C

### 【运输和储存条件】

1. 未开封：试剂盒保存于2-8°C，试剂盒自生产之日起有效期为12个月，有效期见外包装箱标签。
2. 已开封：试剂盒开封后各组份按照表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。
3. 试剂盒在室温下运输，并已经过验证。如果您需要蓝冰运输，请联系我们，但可能需要额外运费。

注：1. 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500mL。

**1.2 配制HRP-Anti-Human IgG工作液:** 用Dilution Buffer将HRP-Anti-Human IgG进行200倍稀释，工作液需避光保存，现用现配。

#### 2. 加样

##### 2.1 样本处理:

可参考图1.的稀释方式，使用Dilution Buffer将待检样本从1:100-1:6400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。

图1.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								
Dilution ratio		1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400
Dilution Buffer Vol.		297 µL	150 µL	150 µL	150 µL	150 µL	150 µL	150 µL

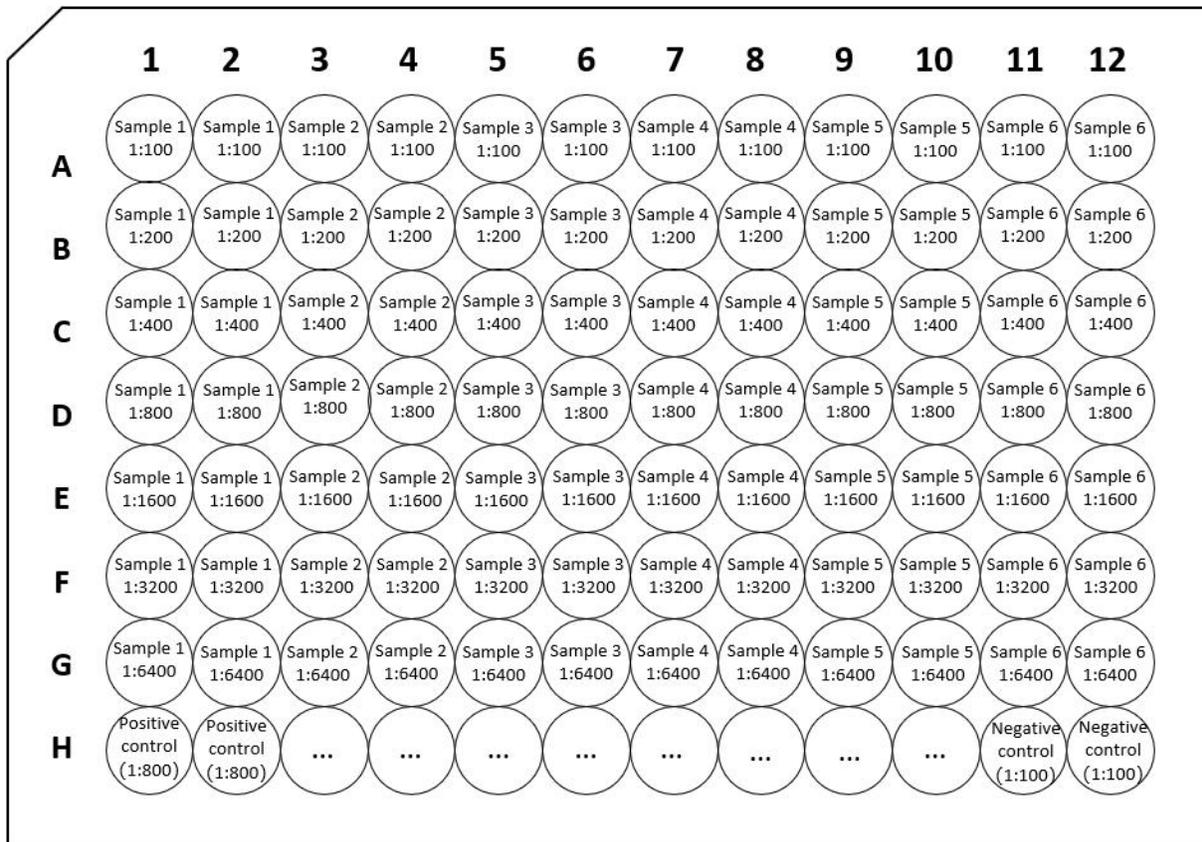
## 2.2 配制Positive Control工作液和Negative Control工作液:

使用Dilution Buffer将Positive Control稀释800倍, Negative Control稀释100倍。

## 2.3 加样:

可参考图 2.的排布方式进行加样, 每孔加样体积为 100 $\mu$ L, 建议待检样本、Positive Control 和 Negative Control 进行复孔加样。

图 2.微孔板样本排布方式



## 3. 孵育

用封板膜封板, 放置 37°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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ L Substrate Solution。用封板膜封板，放置 37°C 恒温培养箱避光孵育 20 min。

## 7. 终止

每孔加入 50  $\mu$ 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。

## 8. 读数

用酶标仪测定各孔在 OD<sub>450 nm</sub> 和 OD<sub>630 nm</sub> 波长的吸光值，请在终止 3 分钟内读数。

注：各孔 OD<sub>450 nm</sub> 扣除 OD<sub>630 nm</sub> 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 (1:100) OD<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub><0.1。
3. 阳性对照质控标准：Positive Control (1:800) OD<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub>≥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<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub>≥0.1，检测到新型冠状病毒(B.1.617.2)IgG 抗体(Spike Trimer)。
2. 抗体阴性判定：OD<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub><0.1，未检测到新型冠状病毒(B.1.617.2)IgG 抗体(Spike Trimer)。
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中新型冠状病毒 IgG 抗体(新冠 Spike 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: 98.6% (144 份阴性血清, 2 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。

#### 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 <sub>450 nm</sub> -OD <sub>630 nm</sub>	Result
100	3.138	抗体滴度为 51200
200	2.991	
400	2.951	
800	2.783	

1600	2.111	
<b>3200</b>	1.349	
6400	0.767	
12800	0.447	
25600	0.29	
<b>51200</b>	0.152	
102400	0.098	
204800	0.07	
Blank	<b>0.043</b>	