

新型冠状病毒IgG抗体(猴)滴度检测试剂盒(Spike Trimer)

(酶联免疫分析法)

【产品名称】

新型冠状病毒IgG抗体(猴)滴度检测试剂盒(Spike Trimer)

【货号】

RAS-T046

【规格】

96 Tests

【预期用途】

本试剂盒适用于猴血清中新型冠状病毒IgG(Spike Trimer)抗体的定性和滴度检测。

【检测原理】

本试剂盒采用间接ELISA方法，将SARS-CoV-2 Spike Trimer 预包被于酶标板上，加入待检测样本，孵育结束后加入辣根过氧化物酶（HRP）标记的羊抗猴 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
RAS046-C01	Pre-coated SARS-CoV-2 Spike Trimer Microplate	1 plate	固体	2-8°C	2-8°C
RAS046-C02	Anti-SARS-CoV-2 Antibody (Control, Monkey IgG)	100 µL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS046-C03	Positive Control	100 µL	液体	2-8°C	2-8°C

RAS046-C04	Negative Control	100 μ L	液体	2-8 $^{\circ}$ C	2-8 $^{\circ}$ C
RAS046-C05	HRP-Goat anti-Monkey IgG	100 μ L	液体	2-8 $^{\circ}$ C, 避光	2-8 $^{\circ}$ C, 避光
RAS046-C06	10 \times Washing Buffer	50 mL	液体	2-8 $^{\circ}$ C	2-8 $^{\circ}$ C
RAS046-C07	Dilution Buffer	50 mL	液体	2-8 $^{\circ}$ C	2-8 $^{\circ}$ C
RAS046-C08	Substrate Solution	12 mL	液体	2-8 $^{\circ}$ C, 避光	2-8 $^{\circ}$ C, 避光
RAS046-C09	Stop Solution	7 mL	液体	2-8 $^{\circ}$ C	2-8 $^{\circ}$ C

【储存条件及有效期】

1. 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，有效期见外包装盒标签。
2. 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°C-25°C)。如果溶液中有结晶形成，需平衡至室温至晶体完全溶解。

【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，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1:50。

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1:50-1:3200进行稀释。

c. 若用于抗体半定量检测: 在实验中，建议将参考品Anti-SARS-CoV-2 Antibody (Control, Monkey IgG) (浓度见管签) 用Dilution Buffer进行稀释，稀释范围0.98-125 ng/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 Positive Control 工作液、Negative Control 工作液、空白对照各一组。

3. 加样

在对应板孔内先加入 100 μL 稀释后的样本、Positive Control 工作液和 Negative Control 工作液。空白对照孔加入 100 μL Dilution Buffer。用封板膜封板，轻轻震荡混匀，放置 37°C 孵育 1.0 h。

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。最后一次洗板后将微孔板拍干。

5. 加 HRP 酶标物

用样品稀释液将HRP-Goat anti-Monkey IgG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。

7. 显色

每孔加入 100 μL 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 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。

9. 读数

用酶标仪测定各孔在 450 nm 和 630 nm 波长的吸光值，请在终止后 3 分钟内完成读数。

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. 阴性对照质控标准：Negative Control (1:50) OD_{450 nm}-OD_{630 nm}<0.1。
3. 阳性对照质控标准：Positive Control (1:50) 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 nm}-OD_{630 nm}≥0.1，检测到样本中含有新型冠状病毒 IgG(Spike Trimer) 抗体。

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 IgG(Spike Trimer) 抗体。
3. 抗体滴度的判定：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】

本产品仅用于检测猴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。

【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	结果判定	检测结果解释
样本OD _{450 nm} -OD _{630 nm} =0.060	阴性	未检测到新型冠状病毒IgG抗体(Spike Trimer)
样本OD _{450 nm} -OD _{630 nm} =0.540	阳性	检测到新型冠状病毒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、阳性对照和空白对照。

稀释倍数	样本 OD _{450 nm} -OD _{630 nm}	Result
50	1.548	抗体滴度为 1600
100	1.027	
200	0.628	
400	0.365	
800	0.223	
1600	0.132	
3200	0.095	
blank	0.023	