

# 新型冠状病毒 (B.1.351) IgG抗体(小鼠)滴度检测试剂盒 (新冠S1蛋白)

## (酶联免疫分析法)

### 【产品名称】

新型冠状病毒 (B.1.351) IgG抗体(小鼠)滴度检测试剂盒 (新冠S1蛋白)

### 【货号】

RAS-T084

### 【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S1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 S1(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) 标记的羊抗小鼠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<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(B.1.351) IgG抗体(Spike S1)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
RAS084-C01	Pre-coated SARS-CoV-2 Spike S1 (B.1.351) Microplate	1 plate	固体	2-8°C	2-8°C
RAS084-C02	Positive Control	100 µL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS084-C03	Negative Control	100 µL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS084-C04	HRP-Goat anti-Mouse IgG	10 µg	冻干粉	2-8°C, 避光	-70°C, 避光
RAS084-C05	10 x Washing Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS084-C06	Dilution Buffer	50 mL	液体	2-8°C	2-8°C
RAS084-C07	Substrate Solution	12 mL	液体	2-8°C, 避光	2-8°C, 避光
RAS084-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，有效期见外包装盒标签。
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。

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。

2. 冻干粉重构后需-70°C储存，建议分装规格不低于5 µg，冻融次数不要超过1次。

## 【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】

1. 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。
2. 按照表2建议，用超纯水将所提供的冻干品配制成存储溶液，在室温下溶解15至30分钟，偶尔轻轻震荡，避免剧烈摇动或涡旋。重构的存储液应在-70°C保存，建议冻融次数不要超过3次。为避免表面吸附性损失和失活，每个小瓶中分装的重组蛋白不得少于5 µg。

注：HRP-羊抗小鼠抗体存储溶液应避光待用。

表2. 配制方法

ID	组份名称	规格 (96 T)	存储液浓度.	重构水体积 Vol.
RAS084-C04	HRP-Goat anti-Mouse IgG	10 µg	50 µg/mL	200 µL

## 【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1:100。

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1:100-1:51200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  $\mu$ 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 $\times$ Washing Buffer 洗板，300  $\mu$ 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-Goat anti-Mouse IgG存储液稀释至0.08  $\mu$ g/mL，每孔加入100  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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。

## 9. 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。

## 【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 (1:1600) OD<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub>≥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】

1. 阳性样本检测：OD<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub>≥0.1；
2. 阴性样本检测：OD<sub>450 nm</sub>-OD<sub>630 nm</sub><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】

本产品仅用于检测小鼠血清样本中新型冠状病毒 (B.1.351) IgG 抗体(新冠 S1 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： 1.示例数据仅供参考，请以实际检测数据为准； 2.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。

### a. 抗体定性检测

检测结果	结果分析	检测结果解释
样本OD <sub>450 nm</sub> -OD <sub>630 nm</sub> =0.048	阴性	未检测到新型冠状病毒(B.1.351)IgG抗体(Spike S1)
样本OD <sub>450 nm</sub> -OD <sub>630 nm</sub> =0.462	阳性	检测到新型冠状病毒(B.1.351)IgG抗体(Spike S1)

### b. 抗体滴度检测

稀释倍数	样本 OD <sub>450 nm</sub> -OD <sub>630 nm</sub>	Result
100	3.249	抗体滴度为 51200
200	3.200	
400	3.135	
800	2.916	
1600	2.501	
3200	1.670	
6400	0.878	
12800	0.548	
25600	0.322	
51200	0.162	
102400	0.078	
Blank	0.050	