

新型冠状病毒RBD抗体 (IgG2)
检测试剂盒 (酶联免疫法)

DD3105



Vazyme Biotech Co., Ltd.

Web: www.vazyme.com

Tel: 400-600-9335

Sales: sales@vazyme.com

Support: support@vazyme.com

Service: service@vazyme.com



使用说明书

Version 21.1

目录 Contents

01/预期用途	02
02/检测原理	02
03/试剂盒主要组成成分	02
04/储存条件及有效期	03
05/样本要求	03
06/检验方法	03
06-1/实验准备	03
06-2/加样方式	04
06-3/实验操作	04
07/简明操作程序	05
08/结果判定	05
09/检验方法的局限性	06
10/产品性能指标	06
11/注意事项	06

*所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

01/预期用途

本试剂盒通过酶联免疫吸附法可定性或半定量检测人血清或血浆样本中抗新型冠状病毒 SARS-CoV-2 的RBD蛋白的IgG2抗体。

严重急性呼吸综合征病毒2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2) 是引发新型冠状病毒病 (Coronavirus Disease 2019, COVID-19) 的主要病原。该病毒属于冠状病毒科冠状病毒属，是一类具有囊膜的非节段性正义单链RNA病毒。该病毒共编码4种主要的结构蛋白，分别是刺突蛋白 (spike protein, S)、囊膜蛋白 (envelope protein, E)、膜蛋白 (membrane, M) 以及核衣壳蛋白 (nucleocapsid protein, N)。其中S蛋白包含一个受体结合区域 (receptor binding domain, RBD) 可与宿主细胞表面受体血管紧张素转化酶2 (Angiotensin Converting Enzyme 2, ACE2) 结合并侵入宿主细胞。感染该病毒后常见的体征有发热与咳嗽、气促、呼吸困难等不同程度的呼吸道症状，潜伏期一般为2 - 14天。通常抗SARS-CoV-2的抗体IgM与IgG会在感染病毒2 - 3周后相继出现于血清中，之后IgM抗体较快下降，而IgG抗体可长时间存在。

02/检测原理

本试剂盒通过间接ELISA法，检测两步温育过程中抗SARS-CoV-2的RBD蛋白IgG2抗体：酶标板的微孔中包被与目的抗原氨基酸相同的重组RBD蛋白，当样本中存在SARS-CoV-2 IgG2抗体时可与预包被的抗原结合。洗涤后，加入可以特异性结合人IgG2抗体的酶标二抗，形成“包被抗原-抗体-酶标二抗”复合物，再次洗涤后，加入底物显色，最后终止反应，在450 nm波长处读取吸光值。吸光度与样本中抗RBD的IgG2抗体量在一定范围内呈正相关。

03/试剂盒主要组成成分

组分	DD3105-01
1. 预制酶标板 (重组RBD蛋白的包被板)	12 × 8, 96孔
2. 样品稀释液	12 ml
3. 浓缩洗板液 (20 ×)	30 ml
4. 100 × 酶标抗体 (辣根过氧化物酶标记的抗人IgG2)	120 μl
5. 酶标抗体稀释液	12 ml
6. 阳性对照 (anti-SARS-CoV-2 IgG2)	1 ml
7. 阴性对照	1 ml
8. 显色液	12 ml
9. 终止液	6 ml
10. 封板膜	3张
11. 使用说明书	1册
12. 自封袋	1个

注：本试剂盒不可与其他商品化试剂盒混用，本试剂盒不同批次间各对应组分请勿混用。

试剂盒之外需要准备的试剂与器材：

- > 去离子水
- > 加样槽
- > 废液缸
- > 读板器或酶标仪
- > 微孔板混匀器
- > 洗板机
- > 恒温箱
- > 计时器
- > 移液器与配套灭菌枪头
- > 一次性手套
- > 吸水纸

04/储存条件及有效期

试剂盒于2~8℃储存，切勿冷冻，避免强光直射，有效期12个月。

05/样本要求

样本：人血清或抗凝血浆(含EDTA、肝素或枸橼酸钠等抗凝剂)。

采集：尽量避免溶血。

使用：使用前需要将样本平衡至室温；当血清中出现任何可见的固状物，可在室温下6,000×g离心10 min去除，充分混匀后使用。

干扰：当使用抗凝血时，尽量避免使用高脂血、黄疸血或者高溶血性血以及细菌污染的血液样本。

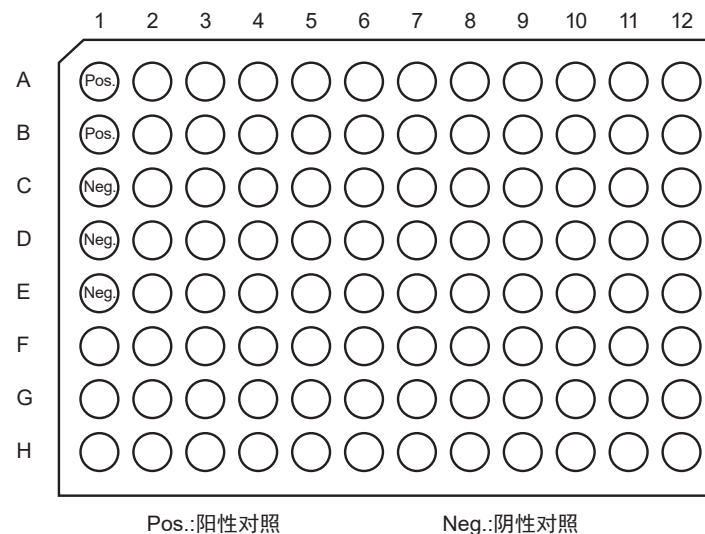
储存：血液样本须在当日内完成检测。如果推迟检测，请将血清或血浆保存在2~8℃(无菌条件下7天)，如长期放置需在-20℃及以下冷冻保存。请勿反复冻融。

06/检验方法

06-1/实验准备

1. 将试剂盒各组分从试剂盒中取出，平衡至室温。
2. 1×洗涤液配制：将20×浓缩洗涤液用去离子水或蒸馏水20倍稀释，混匀备用，例如30 ml 20×浓缩洗涤液用570 ml蒸馏水稀释。
3. 1×酶标试剂液配制：将100×酶标抗体用酶标抗体稀释液100倍稀释，混匀备用，例如100 μl 100×酶标抗体用9.9 ml酶标抗体稀释液稀释。
4. 将恒温箱调至37℃，待温度稳定后使用。

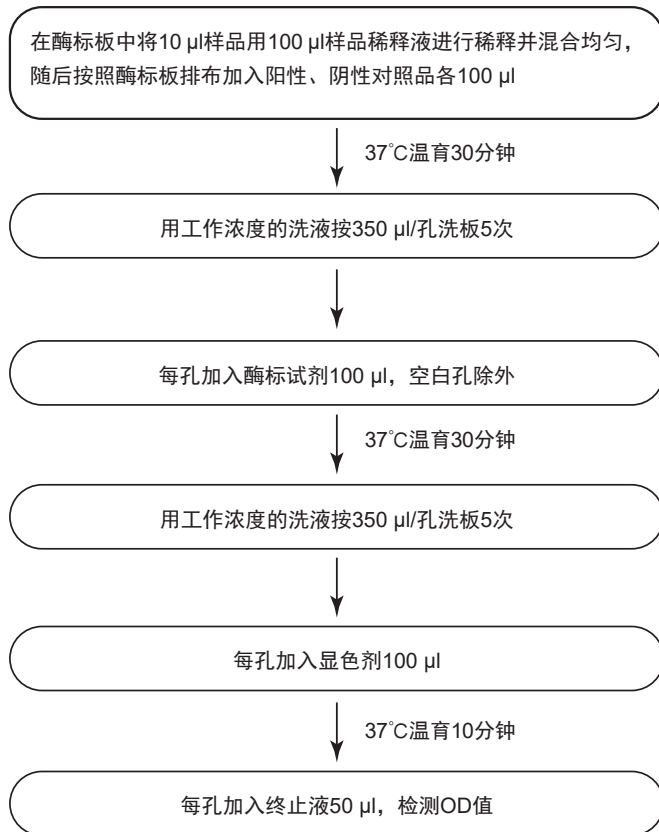
06-2/加样方式



06-3/实验操作

1. 按需要取出预制板条数，剩余未使用的板条尽快放入塑封袋，放还至2~8℃的储存条件。每板应设置阴性对照3孔，阳性对照2孔和空白对照1孔(用双波长检测，则可不设空白对照孔)。
2. 加样品稀释液：每孔加入样品稀释液100 μl，空白孔及阴阳对照孔除外。
3. 加待测样品：分别在相应孔中加入待测样品10 μl，阴、阳性对照100 μl，轻轻振荡混匀。
4. 孵育：用封板膜封板后，放入37℃恒温培养箱孵育30 min。
5. 洗板：孵育完成后，小心揭去封盖膜，弃掉孔内液体，加入至少300 μl洗板液，连续洗板五次，每次至少浸泡30-60 s，最后一次尽量拍干。
6. 加酶标试剂：每孔加入酶标试剂100 μl，空白孔除外。
7. 孵育：用封板膜封板后，放入37℃恒温培养箱孵育30 min。
8. 洗板：孵育完成后，小心揭去封板膜，弃掉孔内液体，加入至少300 μl洗板液，连续洗板五次，每次至少浸泡30-60 s，最后一次尽量拍干。
9. 显色：每孔加入显色剂100 μl，放入37℃恒温培养箱避光孵育10 min。
10. 终止/读值：每孔加入50 μl终止液，轻轻混匀，10 min内读值。测定每孔在450 nm和630 nm处的双波长OD值(若测450 nm单波长OD值，计算时应扣除空白孔读值)。

07/简明操作程序



08/结果判定

1. 临界值 (Cut-off) 计算：临界值=0.20+阴性对照孔A值的均值(如果均值低于0.05，以0.05计算)。(注：A值= 450 nm处OD值- 630 nm处OD值或A值= 450 nm处OD值-空白孔OD值)
2. 阴性对照孔A值均值应 ≤ 0.10 ；阳性对照孔A值均值应 ≥ 0.80 ，否则试验无效。
3. 若有1孔阴性对照A值大于0.1应舍弃，若有2孔或2孔以上阴性对照A值大于0.1，应重复实验。
4. 阳性判定：样品A值 \geq 临界值 (Cut-off)，判定为新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) RBD IgG2抗体阳性；
5. 阴性判定：样品A值 $<$ 临界值 (Cut-off)，判定为新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) RBD IgG2抗体阴性。

09/检验方法的局限性

1. 阴性结果并不能排除抗体不存在，它与感染或者免疫的阶段，原样本的稀释程度等有关，故必须结合综合临床信息，不能作为唯一的判断依据；
2. 存在假阳性的可能性，例如在更早之前的病毒感染，存在与抗原可以发生交叉反应的抗体存在；
3. 本产品可以与SARS-CoV-1的IgG抗体发生交叉反应；
4. 交叉污染、微生物污染、严重溶血或浑浊的样本可能造成不正确的检测结果，故在检测的全过程中尽量避免使用此类样本；
5. 由于强酸、强碱、强氧化、强还原性物质均会造成酶的活性改变，故在检测的全过程中尽量避免这些极端环境的影响。

10/产品性能指标

精密度：变异系数 (Coefficient of variation, CV) $< 15\%$ 。

11/注意事项

1. 重组RBD蛋白预包被酶标板可拆卸，每次将需用数量的板条取出后，其余未用板条须放回自封袋内于2~8°C储存待用。拆卸板条时，切勿碰触孔底，以免指纹或刮痕等影响之后的读值。洗板后，切勿放置太久而干燥失活，需立即进行下一步操作。
2. 封板膜不可重复使用。
3. 各组分储存与用法请严格按照使用说明，切勿自行更改与稀释。
4. 在使用前，请严格检查试剂盒的效期与包装。如果效期超时或包装破损，请不要用于实验操作。
5. 使用前，所有试剂需要平衡至室温配制使用，之后需立即放还至2~8°C的低温条件。
6. 加样品时，避免产生气泡，避免枪头触及板底，造成刮痕影响读值。
7. 操作中须佩戴一次性手套和实验室规定的防护物品，检测后的废液和用具须按照当地政府和有关国家规定进行无害化处理。