

**小鼠新型冠状病毒RBD抗体(IgG)
检测试剂盒(酶联免疫法)**

DD3201



使用说明书

Version 21.2

目录 Contents

01/应用	02
02/实验原理	02
03/主要组成成份	02
04/储存条件及有效期	03
05/检验方法	03
05-1/ 实验准备	03
05-2/实验操作	03
06/结果判定	04
07/产品性能指标	04
08/注意事项	04

*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/应用

ELISA法测定小鼠血清中新型冠状病毒RBD IgG抗体的滴度。

02/实验原理

本方法选取的试剂盒中含有包被过的聚苯乙烯酶标板。酶标板的微孔中包被有与目标抗原氨基酸同源性的重组表达纯化RBD蛋白。将用样品稀释液稀释后的小鼠血清加入微孔中孵育。如果存在该目标蛋白特异性抗体，特异性抗体将与固相中的抗原结合。洗涤微孔以去除非特异结合的物质。将辣根过氧化物酶标记的兔抗鼠IgG抗体加入微孔。这种被标记的抗体将会与微孔中的抗原-抗体复合物结合，洗涤去除多余未结合的标记抗体。向微孔中加入TMB底物液，加入底物缓冲液后显示蓝色即表示有特异性抗体存在，最后用终止液终止反应的进行。测定每孔在450 nm和630 nm处的吸光值(OD值)。

03/主要组成成份

编号	组份名称	规格
1	预包被板 RBD抗原包被的微孔板	12 × 8, 96孔
2	100 × 酶标抗体	120 μl
3	酶标抗体稀释液	12 ml
4	样本稀释液	2 × 12 ml
5	20倍浓缩洗液	30 ml
6	阳性对照	0.5 ml
7	阴性对照	0.5 ml
8	TMB底物液	12 ml
9	终止液	6 ml

实验操作中需要但试剂盒中没有提供的器材和试剂：

- 酶标仪
- 去离子水
- 水平振荡器
- 洗板机(可选)或手动洗
- 移液器
- 移液器枪头

- 试剂瓶500 ml或1 L
- 恒温孵育箱
- 计时器
- 吸水纸
- 实验室用消毒液。

04/储存条件及有效期

1. 试剂盒于2~8℃储存，防止冷冻，避免强光照射，有效期12个月。
2. 对照品开启使用后，2~8℃保存可使用7天，若需使用更长时间，应根据需要进行分装，-30~-15℃冻存，可以保存3个月，但应避免反复冻融。

05/检验方法

05-1/实验准备

1. 将试剂盒从冷藏环境中取出，放置室温(18~25℃)平衡至少30 min。
2. 洗液工作液配制：将20倍浓缩洗液按照1:19的比例加入到去离子水或蒸馏水中，混匀备用。例如一瓶30 ml的20倍浓缩洗液可配制成600 ml洗液。
3. 酶标抗体工作液配制：将100 μl 100 ×酶标抗体加入到9.9 ml 酶标抗体稀释液中，上下颠倒混匀至少30次，制备酶标抗体工作液。
注意：酶标抗体工作液可保存在2~8℃于当天使用，可根据待测样本数量准备工作液用量，每设置1个样本或对照需酶标抗体工作液100 μl。
4. 待测样本稀释：
初次检测：待测样本用样本稀释液先按1:40比例稀释，在此基础上再按照1:20比例稀释，做为首孔，后续进行3倍梯度稀释，共稀释7个梯度。
后续分析：根据初次检测结果，选取适当的稀释度或系列稀释，对样品反应性进行进一步分析。
5. 将恒温箱调至37℃，待温度稳定后使用。

05-2/实验操作

1. 加样：将预包被板条固定在板架上，每次检验设阴性对照3孔，阳性对照2孔，两种对照之间至少隔3个孔，加入相应体积100 μl，将待测稀释样本加入100 μl于反应孔中。
2. 温育：盖上封板膜，置37℃温育60 min。
3. 洗涤：弃去孔内液体，加入稀释后的洗液，每孔不少于300 μl，静置浸泡30秒，弃去孔内洗液，重复洗5次后拍干。
4. 加酶：每孔加入酶标抗体工作液100 μl。
5. 温育：盖上封板膜，置37℃温育30 min。

6. 洗涤：弃去孔内液体，加入稀释后的洗液，每孔不少于300 μl ，静置浸泡30秒，弃去孔内洗液，重复洗5次后拍干。
7. 显色：每孔加入TMB 底物液100 μl ，盖上封板膜，置37°C避光孵育10 min。
8. 终止：每孔加入终止液50 μl 终止反应。
9. 读值：用酶标仪读值，测定每孔在450 nm和630 nm下的双波长OD值。

06/结果判定

1. 阳性对照的正常范围：阴性对照孔A值(450 nm处的OD值-630 nm处的OD值) ≤ 0.15 (若有1孔阴性对照孔A值大于0.15, 应舍弃该孔, 若两孔或两孔以上阴性对照孔A值大于0.15, 应重复实验)。阳性对照复孔A均值应大于0.4。阴性对照A值若 < 0.05 , 按照0.05进行计算。
2. 理论阴性血清样本只做800倍稀释，如果检测值高于800，再按照正常样本，测7个稀释度。
3. 临界值(Cutoff)计算：
临界值= 0.15+阴性对照的均值(如果均值低于0.05, 以0.05计算)。
4. 试验结果判断
样本A值 \geq Cutoff值，则测试样本为IgG抗体检测阳性。
样本A值 $<$ Cutoff值，则测试样本为IgG抗体检测阴性。

07/产品性能指标

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

08/注意事项

1. 操作前仔细阅读使用说明书，严格按照试剂盒说明书进行实验操作。
2. 避免在恶劣的环境(如含有84消毒液、次氯酸钠、酸碱或乙醚等高浓度腐蚀性气体及灰尘的环境)条件下进行实验，实验室消毒应在实验结束后进行。
3. 冷藏环境中取出的试剂盒应平衡至室温下方可打开使用，试剂使用前应充分摇匀。
4. 包被板打开后，应将剩余包被板放入铝箔自封袋密封，再装入包装袋中密封保存，以免受潮。
5. 不同批号的试剂组分不可混用。
6. 微量移液器枪头不可混用，以免交叉污染。
7. 若20倍浓缩洗液出现结晶，应置于37°C中至溶解后再使用。
8. 洗涤时各孔需加满洗液，以防止孔口有游离酶标记底物未被洗干净。
9. 结果判读，请在反应终止后15 min内进行。
10. 本产品检测结果仅供科学研究用。



Vazyme Biotech Co., Ltd.

Web: www.vazyme.com

Tel: +86-400-600-9335

Sales: sales@vazyme.com

Support: support@vazyme.com

