产品信息（Product Details）

产品概述（Summary）

产品名称（Product name）	Human COVID-19 Spike RBD IgA ELISA检测试剂盒
货号（Catalog#）	ATK00030
描述（description）	本试剂盒采用间接ELISA分析技术，将RBD蛋白预先包被在酶标板上，之后将阳性对照样本和分析样本分别加入到微孔中，样本中针对RBD蛋白的IgA抗体会和预包被的RBD蛋白结合，清洗掉未结合的物质，再加入生物素标记的抗人IgA二抗，清洗掉未结合的抗体，再加入HRP标记的链酶亲和素，清洗掉未结合的酶，将显色底物溶液添加到微孔中显色，显色强度与样品中针对RBD蛋白的IgA抗体浓度成正比。 本试剂盒用于测定血清和血浆中针对RBD蛋白的IgA抗体的浓度。
运输方式（Shipping）	蓝冰运输。
稳定性&储存（Stability &Storage）	收到试剂盒后请将阳性对照、检测溶液A、检测溶液B以及预包板保存于-20℃，封板膜放置于常温保存,其余试剂请置于 4 ℃保存备用。 试剂盒按推荐温度保存6个月，信号强度降低小于 10%。
使用方法（Standard Operating Procedure）	所需设备及试剂 • 450 nm滤光片酶标仪，含540 nm或570nm校正波长更佳 •单道或多道微量移液器，移液器枪头 •去离子水 • 500 mL量筒 •样品稀释管或不同规格EP管 •吸水纸 样品收集和储存

1）血清：全血室温放置60分钟或4℃过夜，然后1000 x g离心15分钟，取上清检测，或分装后于≤-20℃冰箱保存，避免样品反复冻融。

2）血浆：使用EDTA、肝素或柠檬酸盐作为抗凝剂收集血浆，样品采集后30分钟内1000 x g离心15分钟，取上清检测，或分装后于≤-20℃冰箱保存，避免样品反复冻融。

试剂准备

使用前将所有试剂和标本置于室温平衡。

1. 浓缩清洗液: 如果浓缩液中有晶体析出，加热至室温并轻轻混合，直到晶体完全溶解，25mL浓缩清洗液使用离子水定容至500mL，得到清洗工作

液。

2. 阳性对照标准品：阳性对照浓度为32ug/mL，使用样本稀释液1:2000稀释阳性对照得到第一个标准点16000pg/mL，依次进行倍比稀释操作得到

共计7个标准点16000pg/mL 、8000pg/mL 、4000pg/mL、2000pg /mL 、1000pg/mL、500pg /mL、250pg /mL、最后再以100ul样本稀释液为零标

准（0 pg/mL），共计8个标准点，建议每个标准点至少做2个平行孔

3. 血清，血浆样本：推荐血清，血浆使用样本稀释液1:1000~1:5000稀释后上样。如果样本检测值超出标准曲线范围，可适当调整稀释倍数并重新

测定，或预估样本中抗体浓度，在实验之前预先稀释数个梯度同时进行测定。

4. 检测溶液A：震荡混匀后用掌上离心机瞬时离心，使液体集中于管底，临用前取合适体积用检测溶液稀释液1:2000稀释至工作浓度。

5. 检测溶液B：震荡混匀后用掌上离心机瞬时离心，使液体集中于管底，临用前取合适体积用检测溶液稀释液1:2000稀释至工作浓度。

6. 显色液: 避光保存，显色时100μL /孔。

7. 终止液：显色完毕后50μL /孔。

使用前将所有试剂和样品置于室温。建议对所有标准品、对照品和样品进行一式两份的分析。

1. 按照前面章节的指示准备所有试剂和准备工作。

2. 从板架上取下多余的微孔板条，将其放回装有干燥剂包的箔袋中，然后重新密封保存于-20℃。

3. 每孔加入100μL 稀释好的阳性对照标准品（共计8点）和稀释好的待测样本，用封板膜封住，37℃孵育60分钟。

4. 弃去孔内液体，每孔加入 300μL的清洗工作液，轻微震荡后弃去孔内液体，将酶标板倒扣在吸水纸上轻拍，使残留在孔内的液体全部去除，重复

洗板 3 次，此过程也可采用尖嘴喷射瓶，多道移液器或自动洗板机来完成。

5. 每孔加入100μL检测溶液A工作液（生物素标记），用新的封板膜封住，37℃孵育60分钟。

6. 重复步骤4中的洗板程序。

7. 每孔加入100μL检测溶液B工作液（HRP标记），用新的封板膜封住。37℃孵育30分钟。

8. 重复步骤4中的洗板程序。

9. 每孔加入100μL显色液，37℃避光显色10分钟。

10. 每孔加入50μL终止液，孔里的颜色应该由蓝色变至黄色，如果孔内颜色为绿色或颜色变化不均匀，轻轻震动酶标板板使颜色均一。

11. 擦干酶标板底部水气，立刻用酶标仪在 450nm 波长测量各孔的光密度值（O.D.值），如果波长校正可用，则设置为540 nm或570 nm，如果波

长校正不可用，则从450 nm的读数中减去540 nm或570 nm的读数，这种修正可去除酶标板读数中的光学偏差，如果没有校正波长，可直接读取

450 nm的读数，但读值有可能会更高、更不准确。

标准曲线制作

取每个阳性对照和样本的复孔平均值O.D.，减去零标准孔平均值O.D.后，以阳性对照的浓度为横坐标，O.D.值为纵坐标，绘出标准曲线（R^2值越趋近于1曲线越精确），然后再将样品的平均值O.D.带入标准曲线的回归方程式，计算出样品中目标蛋白浓度。

如果样品已经稀释，从标准曲线上算出的浓度须乘以稀释系数，即为样品的实际浓度。

检测范围

250pg/mL—16000pg/mL

最低检测限(MDD)

200pg/mL

MDD是测试20个零标准（稀释液）的平均O.D.值上加两倍标准差后计算相应的浓度来确定的。

精密度

批内差： CV<12%

批间差： CV<15%

稳定性

试剂盒按推荐温度保存6个月，信号强度降低小于 10%。

实验细节说明

1. 在试剂盒标签上的有效期内使用，不要与其他厂家的试剂盒混合使用。
2. 如果样本检测值超出标准曲线范围，可适当调整稀释倍数并重新测定，或预估样本中抗体浓度，在实验之前预先稀释数个梯度同时进行测定。
3. 为避免交叉污染，不同标准品、样本、试剂的加样需更换移液枪头，每管试剂使用单独的容器储存。

4. 在孵育过程中贴紧封板膜。

5. 显色液避光保存，临用前15分钟从冰箱取出在室温平衡。

6. 浓缩清洗液（20×）需使用去离子水1：20稀释至工作浓度，去离子水不包含在试剂盒中，需实验人员自备。

7. 终止液为酸性溶液，具有轻微腐蚀性，使用时避免接触皮肤、眼、耳、口等暴露部位，如不慎接触，使用大量清水冲洗后观察接触部位反应，如情节严重请及时就医。

8. 试剂盒酶标板条可按需拆卸使用，已开封的试剂盒建议在1个月内使用，未开封的试剂盒所有试剂均按试剂瓶标签上所示保存，收到试剂盒后请将阳性对照、检测溶液 A、检测溶液 B、以及预包板保存于-20 ℃，其余试剂请置于 4 ℃保存备用。

常见问题解决指南

问题	原因	解决方案
标准曲线差	移液不精确	检查和校正
	标准品准备不正确	进行正确的
O.D 值低	孵育时间太短	保证充足的
	温度不正确	试剂平衡至
	试剂体积不正确	检查移液器
精密度低	移液不精确	检查和校正
	混匀不充分	充分混匀和
	洗涤不充分	按说明书要
背景值高	洗涤不充分	按说明书要
	清洗液污染	重新配置清
灵敏度低	试剂盒储存不当	试剂盒短期 说明书分开

组分和说明（Component and Instruction）

样品清单及储存条件

样品名称	规格	描述	推荐储存条件
预包板	1 板	96孔聚苯乙烯微孔板（12条*8孔），预包被RBD蛋白。	密封状态放置于-20℃保存。
阳性对照	1瓶	12μL 针对RBD蛋白重组人源IgA抗体，浓度32ug/mL。	放置于-20℃ 保存。
检测溶液A	1 瓶	12μL 生物素标记的抗人IgA二抗，临用前用检测溶液稀释液1:2000稀释至工作浓度。	放置于-20℃ 保存。
检测溶液B	1 瓶	12μL HRP标记的链酶亲和素，临用前用检测溶液稀释液1:2000稀释至工作浓度。	放置于-20℃ 保存。
样本稀释液	1 瓶	25 mL稀释液（含防腐剂），用于阳性对照、血清、血浆的稀释。	放置于4℃ 保存。
检测溶液稀释液	1 瓶	25 mL稀释液（含防腐剂），用于检测溶液A，检测溶液B的稀释。	放置于4℃ 保存。
浓缩清洗液	1 瓶	25 mL （20×）浓度的清洗液（含防腐剂），临用前用去离子水1:20稀释至工作浓度。	放置于4℃ 保存。
显色液	1 瓶	12 mL TMB（四甲基联苯胺）。	放置于4℃ 保存。
终止液	1 瓶	6 mL 2M 酸液。	放置于4℃ 保存。
封板膜	4 片	用于实验中封闭酶标板。	放置于常温保存。

Note

For research use only .