

产品信息 (Product Details)

产品概述 (Summary)

产品名称 (Product name)	Human COVID-19 Spike Protein IgG ELISA检测试剂盒
货号 (Catalog#)	ATK00031
描述 (description)	本试剂盒采用间接 ELISA 分析技术，将 S 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 S 蛋白的 IgG 抗体会和预包被的 S 蛋白结合，清洗掉未结合的物质，再加入生物素标记的抗人 IgG 二抗，清洗掉未结合的抗体，再加入 HRP 标记的链霉亲和素，清洗掉未 结合的酶，将显色底物溶液添加到微孔中显色，显色强度与样本中针对 S 蛋白的 IgG 抗体浓度成正比。 本试剂盒用于测定血清和血浆中针对 S 蛋白的 IgG 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

样本收集和储存

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。

Human COVID-19 Spike Protein IgG ELISA检测试剂盒

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 $\leq 20^{\circ}\text{C}$ 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样本置于室温平衡

1. 20 $\times$ 浓缩清洗液：如果浓缩液中有晶体析出，平衡至室温并摇匀，直到晶体完全溶解，25mL 浓缩清洗液使用去离子水定容至 500mL，得到清洗工作液。

2. 阳性对照标准品：阳性对照浓度为 0.8mg/mL，使用样本稀释液 1:100 稀释阳性对照得到浓度为 8 $\mu\text{g/mL}$ 的标准品母液，再使用样本稀释液 1:1000 稀释标准品母液得到第一个标准点 8000pg/mL，依次进行倍比稀释操作得到共计 7 个标准点 8000pg/mL、4000pg/mL、2000pg/mL、1000pg/mL、500pg/mL、250pg/mL、125pg/mL、最后再以 100 μL 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 1:10000 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 100 μL /孔。

7. 终止液：显色完毕后 50 μL /孔。

使用前将所有试剂和样本置于室温，建议对所有标准品和样本进行一式两份的分析

1. 按照前面章节的指示，进行所有试剂和样本的准备工作。

Human COVID-19 Spike Protein IgG ELISA检测试剂盒

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铝箔袋中，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

取每个阳性对照标准品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，计算出样本中目标抗体浓度。

如果样本已经稀释，从标准曲线上算出的浓度须乘以稀释系数，即为样本中目标抗体的实际浓度。

检测范围

125pg/mL—8000pg/mL

最低检测限(MDD)

100pg/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。

Human COVID-19 Spike Protein IgG ELISA检测试剂盒

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。

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 列*8 孔)，预包被 S 蛋白。	密封状态放置于-20℃保存。
阳性对照	1管	12μL 针对 S 蛋白的重组人源 IgG 抗体，浓度 0.8mg/mL。	放置于-20℃ 保存。
检测溶液A	1管	12μL 生物素标记的抗人 IgG 二抗，临用前用检测溶液稀释液 1:10000 稀释至工作浓度。	放置于-20℃ 保存。
检测溶液B	1管	12μL HRP 标记的链霉亲和素，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。
-----	-----	-------------	----------

在试剂盒保质期内使用

Note

For research use only .

