

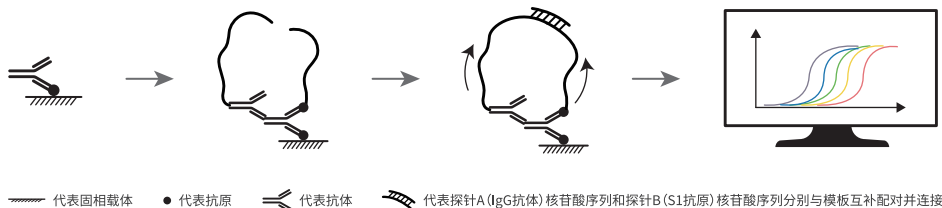
新型冠状病毒(2019-nCoV) IgG抗体检测试剂盒(qPCR法)

一、用途

用于检测人血清或血浆中2019-nCoV Spike S1 抗体水平。

二、工作原理

本产品将新冠病毒蛋白连接于固相载体上,以捕获待测样品中的抗新型冠状病毒的抗体,经过洗板后,加入探针A(IgG抗体)和探针B(S1抗原),形成抗原-抗体-探针复合物,之后加入PCR反应液进行荧光定量PCR反应,使得探针A和探针B的DNA序列相连并扩增,荧光定量PCR的 C_T 值与样本中的抗新型冠状病毒抗体含量呈负相关。



三、操作前期准备

器材准备清单	
* 荧光定量PCR仪 (型号与捕获板是否匹配) <input type="checkbox"/>	八联管 <input type="checkbox"/>
* 离心机 (型号与捕获-洗涤装置是否匹配) <input type="checkbox"/>	96孔板 <input type="checkbox"/>
移液器 <input type="checkbox"/>	加样槽 <input type="checkbox"/>

* 96孔抗体捕获板为全裙边,应注意是否与荧光定量PCR仪适配。

* 捕获-洗涤装置规格为125mm × 85mm × 50mm,应注意是否与离心机适配。

四、试剂盒组成

试剂盒组成	96孔配置	保存温度	试剂盒
说明书	1份	室温	A
封板膜	4片	室温	A
洗涤缓冲液	100ml x 1瓶	室温	A
96孔抗体捕获-洗涤装置	1组	2-8°C	A
样本稀释液	2ml x 1瓶	2-8°C	A
探针A	20μl x 1支	2-8°C	A
探针B	20μl x 1支	2-8°C	A
探针稀释液	1.8ml x 1瓶	2-8°C	A
PCR缓冲液	1.8ml x 1瓶	-20°C	B
Anti-2019-nCoV Spike Antibody (Control)	20μl x 1支	-20°C	B
PCR酶	10μl x 1支	-20°C	B
连接酶	10μl x 1支	-20°C	B

五、检测流程

1. 样本稀释

- 额外准备一个96孔板,每孔中依次加入样本稀释液④18 μ l、样本血浆/血清2 μ l,用移液器上下吹打混匀。
- (可选)Anti-SARS-CoV-2 (2019-nCoV) Spike Antibody (Control)●标准品配制:抗体浓度为100 μ g/ml,用样本稀释液④将抗体1:10-1:100000稀释至使用浓度。

注意:切勿涡旋振荡混匀。

2. 样本孵育

- 取15 μ l上述混合液至96孔抗体捕获板每孔中,用封板膜封板后1000g离心1min,室温孵育30min。

注意:抗体捕获-洗涤装置在使用前需在室温放置10min。

3. 洗板

- 揭掉封板膜,弃去液体,加入洗涤缓冲液100 μ l/孔至抗体捕获板中,浸泡20s后弃去,如此重复3次。

注意:可用试剂盒提供的洗涤收集装置或是洗板机收集液体,不充分的洗涤易造成假阳性。

4. 探针检测

- 探针液的配制:分别取18 μ l探针A●和18 μ l探针B●至1.8ml探针稀释液④中,用移液器上下吹打混匀。
- 探针检测:在抗体捕获板中每孔加入15 μ l上述混合液,用封板膜封板后1000g离心1min,室温孵育1h。

5. 洗板

- 重复步骤3。

6. PCR反应

- PCR反应液的配制:将9 μ l PCR酶●和9 μ l连接酶●至1.8ml PCR缓冲液●中,用移液器上下吹打混匀。
- PCR反应:在抗体捕获板中每孔加入15 μ l上述混合液,用封板膜封板后1000g离心1min,放入荧光定量PCR仪中,反应程序按照下表进行程序设定,选择FAM通道检测。

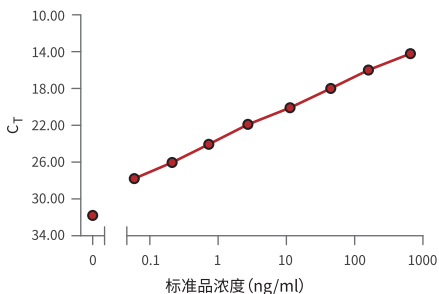
步骤	温度	时间	循环数
连接	37°C	5min	1
酶失活	95°C	2min	1
退火/延伸	95°C	15s	40
	60°C	1min	

7. 读值

- 读取荧光定量PCR的 C_T 值。

六、标准曲线实例

以 C_T 值为纵坐标,以Anti-2019-nCoV Spike Antibody标准品浓度为横坐标,绘制标准曲线。根据样品的 C_T 值可在标准曲线上查出其浓度。



抗体浓度 (ng/ml)	平均 C_T 值
625.00	14.4
156.25	16.1
39.06	18.0
9.77	20.2
2.44	22.0
0.61	24.3
0.153	26.2
0.038	27.9
0	31.8