

**Anti SARS-CoV-2 S-RBD IgG ELISA Kit Wako****[Introduction]**

This ELISA kit quantifies IgG antibody against SARS-CoV-2 S protein receptor-binding domain (RBD) in serum or plasma. The concentration of the antibody in samples can be calculated by measuring the absorbance. Assay time is about three hours. This kit contains all the reagents used in the assay. This product is for research use only.

**[Kit Performance]**

Standard curve range	2-250 U/mL
Target	IgG antibody specific for SARS-CoV-2 RBD
Sample	Serum and plasma
Sample volume	5 $\mu$ L
Assay time	About three hours
Detection method	Coloring method

**[Kit Content]**

Component	Condition	Volume or quantity
SARS-CoV-2 S Protein-coated Plate (SARS-CoV-2 S protein RBD recombinant antigen coated)	Ready-to-use	1 plate (96 wells)
Peroxidase (POD)-labeled Antibody Solution (POD-labeled anti human IgG monoclonal antibody (mouse))	Ready-to-use	6 mL $\times$ 1 tube
Concentrated Wash Solution (10 $\times$ )	Use after dilution	100 mL $\times$ 1 tube
Coloring Reagent (TMB Solution)	Ready-to-use	11 mL $\times$ 1 tube
Stop Solution (1 N HCl)	Ready-to-use	11 mL $\times$ 1 tube
Sample Dilution Buffer (0 U/mL)	Ready-to-use	100 mL $\times$ 2 tubes
Anti SARS-CoV-2 IgG Standard-1 (62.5 U/mL)	Ready-to-use	500 $\mu$ L $\times$ 1 tube
Anti SARS-CoV-2 IgG Standard-2 (125 U/mL)	Ready-to-use	500 $\mu$ L $\times$ 1 tube
Anti SARS-CoV-2 IgG Standard-3 (187.5 U/mL)	Ready-to-use	500 $\mu$ L $\times$ 1 tube
Anti SARS-CoV-2 IgG Standard-4 (250 U/mL)	Ready-to-use	500 $\mu$ L $\times$ 1 tube
Plate Seal	Ready-to-use	3 sheets
Instruction Manual		1 copy

**[Measurement Principle]**

SARS-CoV-2 protein RBD recombinant antigen has been immobilized on the plate. Sample is added to each well, and anti SARS-CoV-2 antibody in the sample binds to the antigen on the plate. Then POD-labeled anti human IgG monoclonal antibody (mouse) is added, forming "Antigen-Anti SARS-CoV-2 IgG-POD labeled anti human IgG antibody" complex on the plate. The amount of POD bounded on the plate is proportional to the amount of anti SARS-CoV-2 antibody in the sample. Therefore by measuring of POD activity in the well, the concentration of anti SARS-CoV-2 antibody in the sample can be quantified.

**[Equipment and materials required but not supplied]**

- Purified water (distilled water)
- Tubes for diluting samples
- Glass utensils for diluting Wash Solution (graduated cylinder and beaker)
- Vortex mixer
- Aspirator
- Pipettes with disposable tips
- Multichannel pipette
- Paper towels (for removal of liquid)
- Microplate shaker
- 96-well plate washer (preferable if available)
- 96-well plate reader (Measurement wavelength 450 nm/620 nm)
- Data processing software

**[Reagent Preparation]**

1. Wash Solution  
Dilute Concentrated Wash Solution ( $\times$ 10) 10 times with purified water.
2. Standard  
Use Sample Dilution Buffer and Anti SARS-CoV-2 IgG Standard (1-4) as they are.
3. Sample Dilution  
Dilute 5  $\mu$ L of sample with 1,000  $\mu$ L of Sample Dilution Buffer.

\* Use other reagents as they are.

**[Stability and Storage of Reagents]**

Store the kit at 2-10°C. The kit is stable until the expiration date under the condition (The expiration date is printed on the label). The kit should not be used beyond the expiration date. Please use opened reagents as soon as possible since they may be affected by storage conditions.

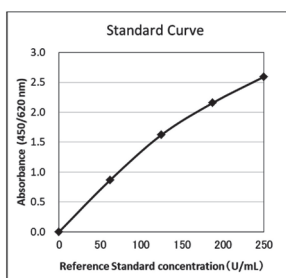
**[Assay Procedure]**

Prepare all the reagents as described in [Reagent Preparation] before starting the assay.

- |   |   |
|---|---|
| Reference Standard/Sample<br>50 $\mu$ L     | (1) Add 50 $\mu$ L of diluted samples or standard to each well of the antigen-coated plate (standard are assayed in duplicate). |
| ↓ RT, 1 hour                                |   |
| Wash<br>300 $\mu$ L $\times$ 3 times        | (2) Cover with a plate seal and shake it on a microplate shaker. Incubate an hour at room temperature.                          |
| ↓   |   |
| POD-labeled Antibody Solution<br>50 $\mu$ L | (3) Discard the samples and standard using an aspirator.  |
| ↓ RT, 1 hour                                |   |
| Wash<br>300 $\mu$ L $\times$ 5 times        | (4) Add 300 $\mu$ L of Wash Buffer and discard it.  |
| ↓   |   |
| Coloring (TMB solution)<br>100 $\mu$ L      | (5) Repeat wash as in (4) 3 times.  |
| ↓ RT, 10 min                                | (6) Invert the plate and gently blot it against clean paper towels.   |
| Stop Solution (1 N HCl)<br>100 $\mu$ L      | (7) Add 50 $\mu$ L of POD-labeled Antibody Solution to each well.   |
| ↓   | (8) Cover with a new plate seal and shake it on a microplate shaker. Incubate for an hour at room temperature.                  |
| Absorbance measurement<br>450 nm/620 nm     | (9) Aspirate each well.   |
- (10) Add 300  $\mu$ L of Wash Buffer and discard it.  
 (11) Repeat wash as in (10) 5 times.  
 (12) Add 100  $\mu$ L of TMB Solution to each well.  
 (13) Cover with a new plate seal and shake it on a microplate shaker. Incubate for 10 minutes at room temperature (the color of the wells turn blue).  
 (14) Add 100  $\mu$ L of Stop Solution (1 N HCl) to each well (the color of the wells turn yellow).  
 (15) Within 30 minutes after the reaction stops, measure the absorbance (450 nm/620 nm) using 96-well plate reader.

#### [Calculation of Results]

- After the measurement according to [Assay Procedure], prepare a standard curve by plotting the absorbance of each standard on Y-axis against the concentration on X-axis.
- Determine the anti SARS-CoV-2 antibody concentration of the samples from the standard curve and multiply the value by the dilution factor.
- Human IgG recombinant antibody against SARS-CoV-2 S protein RBD is used as standard.



#### [Note]

In case non-specific reactants (e.g. heterophile antibody) exist in samples, correct measurement results may not be obtained.

#### [Precautions]

- (1) If any reagents touch eyes, skin or mucous membranes, wash eyes/skin thoroughly with copious amounts of water and contact physician, when necessary.
- (2) Handle the samples carefully with the attention of virus infection.
- (3) When the samples or waste liquid scatter, wipe them off using disinfectant such as sodium hypochlorite (effective chlorine concentration : 1,000 ppm) or ethanol.
- (4) Stop Solution (1 N HCl) contains hydrochloric acid. Handle it carefully not to spill.
- (5) Do not use the reagents if accidentally frozen.
- (6) Avoid using products from different lot together.
- (7) Use the containers and accessories in this product only for the designated purpose.
- (8) ELISA can be affected by the laboratory environment. Avoid the environment where there is current of air including the current of air from air conditioner and low humidity.
- (9) Dispose properly according to the rules and regulations of your site.
- (10) Treat reagents and containers that had contact with the samples as the one having infectious risk. Incinerate them or dispose of them according to the regulations.

〈Example of disposal method〉

Autoclave processing :

Sterilize with high pressure steam for 20 minutes or more at more than 121°C.

Hypochlorous acid processing :

Soak the wastes in aqueous solution that contains 1,500-2,000 ppm or more of free chlorine for more than 60 minutes.

#### [Package]

Code No.	Size
290-84201	96 reactions

#### [References]

- (1) The Japanese Association for Infectious Diseases Significant Scientific Evidences about COVID-19 (24/07/2020) ([https://www.kansensho.or.jp/uploads/files/topics/2019ncov/covid19\\_sse\\_0724.pdf](https://www.kansensho.or.jp/uploads/files/topics/2019ncov/covid19_sse_0724.pdf))
- (2) The Japanese Association for Infectious Diseases 新型コロナウイルス感染症に対する検査の考え方－遺伝子診断、抗体、抗原検査の特長と使い分け－ ([https://www.kansensho.or.jp/uploads/files/topics/2019ncov/covid19\\_kensaguide\\_0526.pdf](https://www.kansensho.or.jp/uploads/files/topics/2019ncov/covid19_kensaguide_0526.pdf))

### FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation

1-2, Doshomachi 3-Chome, Chuo-Ku, Osaka 540-8605, Japan  
 Telephone : + 81-6-6203-3741  
 Facsimile : + 81-6-6201-5964  
<http://www.wako-chem.co.jp>

FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation

1600 Bellwood Road  
 Richmond, VA 23237  
 U.S.A.  
 Telephone : + 1-804-271-7677  
 Facsimile : + 1-804-271-7791  
<http://www.wakousa.com>

FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH

Fuggenstrasse 12  
 D-41468 Neuss  
 Germany  
 Telephone : + 49-2131-311-0  
 Facsimile : + 49-2131-311-100  
<http://www.wako-chemicals.de>

コードNo. 290-84201

## 抗 SARS-CoV-2 S-RBD IgG ELISA キットワコー

### 【はじめに】

本製品は、血清または血漿中の新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) S タンパク受容体結合ドメイン (RBD: Receptor-binding domain) 領域に対する IgG 抗体を定量する ELISA 測定試薬です。吸光度を測定することにより、試料中の抗 SARS-CoV-2 S 抗体の濃度を求めることができます。測定に要する時間は約3時間で、反応に使用するすべての試薬が同梱されています。本キットは研究用試薬です。

### 【キット性能】

検量線範囲	2-250U/mL
測定対象	SARS-CoV-2 S タンパク質 RBD 領域の IgG 抗体
測定対象検体	血清および血漿
必要検体量	5 $\mu$ L
測定時間	3 時間
検出法	発色系

### 【キット内容】

構成品	状態	容量
SARS-CoV-2 S タンパク 固相化プレート (SARS-CoV-2 S タンパク RBD リコンビナント抗原固相)	そのまま使用	1 プレート (96 ウェル)
ペルオキシダーゼ (POD) 標識抗体溶液 (POD 標識抗ヒト IgG モノクローナル抗体 (マウス))	そのまま使用	6mL $\times$ 1 本
濃縮洗浄液 (10 $\times$ )	調製後使用	100mL $\times$ 1 本
発色液 (TMB 溶液)	そのまま使用	11mL $\times$ 1 本
反応停止液 (1N HCl)	そのまま使用	11mL $\times$ 1 本
検体希釈液 (0U/mL)	そのまま使用	100mL $\times$ 2 本
抗 SARS-CoV-2 IgG 標準品 -1 (62.5U/mL)	そのまま使用	500 $\mu$ L $\times$ 1 本
抗 SARS-CoV-2 IgG 標準品 -2 (125U/mL)	そのまま使用	500 $\mu$ L $\times$ 1 本
抗 SARS-CoV-2 IgG 標準品 -3 (187.5U/mL)	そのまま使用	500 $\mu$ L $\times$ 1 本
抗 SARS-CoV-2 IgG 標準品 -4 (250U/mL)	そのまま使用	500 $\mu$ L $\times$ 1 本
プレートシール	そのまま使用	3 枚
取り扱い説明書		1 部

### 【測定原理】

SARS-CoV-2 S タンパク RBD リコンビナント抗原を固相化した抗原コーティングプレート (ウェル) に、試料を加えて反応させると試料中の抗 SARS-CoV-2 抗体がプレート上の抗原と結合します。次いで POD 標識抗ヒト IgG モノクローナル抗体 (マウス) を反応させるとプレート上に「抗原-抗 SARS-CoV-2 IgG-POD 標識抗体」の複合体が形成されます。プレート上に結合した POD の量は抗 SARS-CoV-2 抗体濃度に比例するため、ウェル中の POD 活性を測定することにより、試料中の抗 SARS-CoV-2 抗体濃度を求めることができます。

### 【使用器具、器材および装置等】

- ・精製水
- ・検体希釈用チューブ
- ・洗浄液希釈用ガラス器具 (メスシリンダー、ビーカー)
- ・攪拌機 (Vortex タイプ)
- ・アスピレーター
- ・チップ交換型ピペット
- ・連続分注機
- ・ペーパータオル等 (洗浄後の残液除去に使用可能な吸水性のあるもの)
- ・マイクロプレート振とう器
- ・96 ウェルプレート用洗浄機 (あれば好ましい)
- ・マイクロプレート用吸光度測定装置 (測定波長 450nm/620nm)
- ・データ処理ソフトウェア

### 【試薬および検体の調製】

- (1) 洗浄液の調製  
濃縮洗浄液 (10 $\times$ ) を精製水で 10 倍に希釈して下さい。
- (2) 検量線用試料の調製  
検体希釈液 (0U/mL)、標準品 1 ~ 4 をそのまま使用して下さい。
- (3) 検体調整方法  
検体 5  $\mu$ L に検体希釈液 1,000  $\mu$ L を加えて試料として下さい。

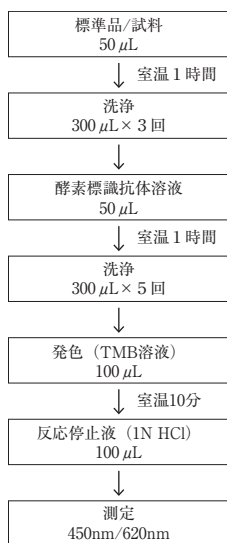
※そのほかの試薬はそのまま使用します。

### 【試薬の安定性と保存方法】

本品は 2-10 $^{\circ}$ C で保存して下さい。この保存条件下で本品は有効期限まで安定です (有効期限はラベルに記載)。有効期限を過ぎた試薬は使用しないで下さい。開封した各試薬は、保管状態により影響を置ける可能性がありますので早めのご使用を推奨します。

### 【測定操作】

下記の操作を始める前に、全ての試薬を【試薬および検体の調製】に従って用意して下さい。



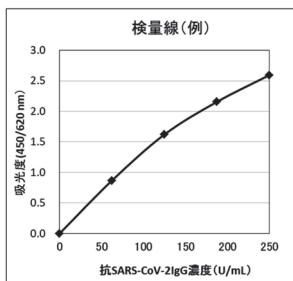
- (1) 抗原コーティングプレートに検体を 50  $\mu$ L/ウェル (検量線用試料は各 2 ウェルずつ) 添加します。
- (2) プレートシールを貼り、マイクロプレート振とう器を用いて攪拌後、室温にて 1 時間静置します。
- (3) アスピレーターなどで検体および検量線用試料を吸引し除去します。
- (4) 洗浄液 300  $\mu$ L を添加し除去します。
- (5) (4) を 3 回繰り返します。
- (6) ペーパータオルなどの上でプレートを逆さにし、軽く叩きつけるようにして、ウェルに残った洗浄液を完全に吸引し除去します。
- (7) POD 標識抗体溶液 50  $\mu$ L を添加します。
- (8) プレートシールを貼り、マイクロプレート振とう器を用いて攪拌後、室温にて 1 時間静置して反応させます。
- (9) アスピレーターで溶液を吸引し、除去します。

- (10) 洗浄液 300  $\mu$ L を添加し、除去します。
- (11) (10) を 5 回繰り返します。
- (12) 発色液 (TMB 溶液) を 100  $\mu$ L/ウェル添加します。
- (13) プレートシールを貼り、マイクロプレート振とう器を用いて攪拌後、室温にて 10 分間静置して反応させます (青色に呈色します)。
- (14) 反応停止液 (1N HCl) を 100  $\mu$ L/ウェル添加します (黄色に変色)。
- (15) 反応停止後 30 分以内にマイクロプレート用吸光度測定装置にて 450nm/620nm の吸光度を測定します。

#### 【測定結果の計算方法】

- ・【測定操作】に従い測定を行った後、吸光度を縦軸、検体希釈液 (0U/mL)、各標準品濃度を横軸にとり、標準品の測定結果をもとに検量線を作成します。
- ・作成した検量線より、各々の試料の吸光度に相当する抗 SARS-CoV-2 抗体濃度を演算します。
- ・標準品は SARS-CoV-2 S タンパク RBD ドメインに対するヒト IgG 型組換え抗体を使用しています。

検量線 (例)



※検体中に非特異反応物質 (異好性抗体等) が存在する場合は、正しい測定結果が得られないことがあります。

#### 【使用上の注意】

(取り扱い上 (危険防止) の注意)

- (1) 試薬が誤って口や目に入ったり、皮膚に付着した場合には、直ちに大量の水で洗い流し、必要があれば医師の手当等を受けて下さい。
- (2) 検体はウイルス等の感染の危険性を考慮して取り扱って下さい。
- (3) 検体、廃液等が飛散した場合には、次亜塩素酸ナトリウム (有効塩素濃度: 1,000ppm)、エタノール等の消毒液を用いて拭き取って下さい。
- (4) 反応停止液 (1N HCl) は塩酸を含みますので、取り扱いに気を付け、こぼさないようにして下さい。
- (5) 誤って凍結させた試薬は使用しないで下さい。
- (6) ロットの異なる試薬を組み合わせてたり、混ぜ合わせてたりして使用しないで下さい。
- (7) 本品中の容器、付属品類は他の目的に使用しないで下さい。
- (8) ELISA 法は測定環境により影響を受けます。風 (エアコン風も含む)、低湿度環境下での測定は避けて下さい。
- (9) 廃棄に際しては、廃棄物の処理および清掃に関する法律 (廃棄物処理法) および排水基準に従って適切に処理して下さい。
- (10) 検体と接触した試薬および試薬容器等は感染の危険性があるものとして焼却処理するか、廃棄物に関する規定に従って処理して下さい。

#### 処理例)

オートクレーブ処理: 121 $^{\circ}$ C 以上で 20 分間以上の高圧蒸気滅菌して下さい。

次亜塩素酸剤処理: 遊離塩素 1,500 ~ 2,000ppm 以上の水溶液に 60 分間以上浸して下さい。

#### 【包装】

コード No.	容量
290-84201	96 回用

#### 【文献】

- (1) 日本感染症学会 Significant Scientific Evidences about COVID-19 (2020 年 7 月 24 日版)  
([https://www.kansensho.or.jp/uploads/files/topics/2019ncov/covid19\\_sse\\_0724.pdf](https://www.kansensho.or.jp/uploads/files/topics/2019ncov/covid19_sse_0724.pdf))
- (2) 日本感染症学会 新型コロナウイルス感染症に対する検査の考え方 - 遺伝子診断、抗体、抗原検査の特長と使い分け -  
([https://www.kansensho.or.jp/uploads/files/topics/2019ncov/covid19\\_kensaguide\\_0526.pdf](https://www.kansensho.or.jp/uploads/files/topics/2019ncov/covid19_kensaguide_0526.pdf))

製造発売元

富士フイルム 和光純薬株式会社

大阪府中央区道修町三丁目 1 番 2 号

Tel : 06-6203-3741