

补体 C4 含量（免疫比浊法）检测试剂盒

（货号：G1248W96 微板法 96 样）

一、产品简介：

以免疫比浊法为测定原理，补体 C4 抗体与补体 C4 抗原引起抗原抗体反应，形成免疫复合物。在 340nm 波长处检测其浊度的变化，其变化程度与样本中的补体 C4 含量成正比。

二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 25mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	液体 5mL×1 瓶	4°C保存	
标准管	液体 0.1mL×1 支	4°C保存	浓度为 0.64g/L

三、所需仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、水浴锅、可调式移液器、离心机、蒸馏水。

四、补体 C4 含量检测：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本：

① 血清样本：

- 血清，肝素或 EDTA 血浆也能作为样本被使用。
- 样本中脂血≤5g/L、胆红素≤600μmol/L、溶血≤5g/L 时未观察到明显干扰。

② 组织样本：

取约 0.1g 组织，加入 1mL 生理盐水（自备），进行冰浴匀浆。4°C×12000rpm 离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例进行提取。

③ 细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 生理盐水（自备），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000rpm 4°C 离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量（10⁴）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

2、上机检测：

① 打开酶标仪，设定波长到 340nm。

② 所有试剂解冻至室温（25°C）或于 25°C 水浴条件下孵育 5-10 分钟，在 96 孔板中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管	空白管 （仅做一次）	标准管 （仅做一次）
样本	2		
蒸馏水		2	
标准品			2
试剂一	250	250	250
混匀，37°C 孵育 5min 后，于 340nm 处读取 A1。			
试剂二	50	50	50
混匀，37°C 孵育 5min 后，于 340nm 处读取 A2，			

$$\Delta A = A_2 - A_1。$$

【注】：1.若 ΔA 值小于0.005，可增加样本加样体积V1（如由2 μ L增至5 μ L，空白管也由2 μ L增至5 μ L蒸馏水，标准管仍然为2 μ L+3 μ L蒸馏水（总体积同测定管和空白管即5 μ L）；其他试剂均保持不变），则改变后的V1代入公式重新计算。

2.若 ΔA 值大于0.3，可对样本用蒸馏水或生理盐水稀释后测定，则稀释倍数D带入公式计算即可。

五、结果计算：

1、按照体积计算：

$$\begin{aligned} \text{补体 C4(g/L)} &= (C \text{ 标准} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div V_1 \times D \\ &= C \text{ 标准} \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times D \end{aligned}$$

2、按样本鲜重计算：

$$\begin{aligned} \text{补体 C4(mg/g 鲜重)} &= (C \text{ 标准} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (W \times V_1 \div V) \times D \\ &= C \text{ 标准} \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div W \times D \end{aligned}$$

3、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{补体 C4(mg/10}^6\text{cell)} &= (C \text{ 标准} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (5 \times V_1 \div V) \times D \\ &= C \text{ 标准} \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div 5 \times D \end{aligned}$$

C 标准---标品浓度，参看试剂盒组分；

V1---加入样本体积，0.002mL；

V---提取液，1mL；

V2---加入准品体积，0.002mL；

W---样本质量，g；

5---细胞数量，百万；

D---稀释倍数，未稀释即为1。