

## Complement C4 Content Assay Kit

### 补体 C4 含量（免疫比浊法）检测试剂盒

货号:BN72165 | 方法: 微板法 | 规格: 48 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 13mL×1 瓶  | 4°C保存 |             |
| 试剂二  | 液体 3mL×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 $\leq 5\text{g/L}$ 、胆红素 $\leq 600\mu\text{mol/L}$ 、溶血 $\leq 5\text{g/L}$  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 (10<sup>4</sup>): 提取液 (mL) 为 500~1000: 1 的比例进行提取。

##### 2、上机检测:

- 打开酶标仪, 设定波长到 340nm。
- 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<br>(仅做一次) | 标准管<br>(仅做一次) |
|-----------|-----|---------------|---------------|
| 样本        | 2   |               |               |
| 蒸馏水       |     | 2             |               |
| 标准品       |     |               | 2             |

|                                                           |     |     |     |
|-----------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 试剂一                                                       | 250 | 250 | 250 |
| 混匀，37℃孵育 5min 后，于 340nm 处读取 A1。                           |     |     |     |
| 试剂二                                                       | 50  | 50  | 50  |
| 混匀，37℃孵育 5min 后，于 340nm 处读取 A2，<br>$\Delta A = A2 - A1$ 。 |     |     |     |

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；  
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

## 五、结果计算：

### 1、按照体积计算：

$$\begin{aligned} \text{补体 C4(g/L)} &= (C_{\text{标准}} \times V2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div V1 \times D \\ &= C_{\text{标准}} \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times D \end{aligned}$$

### 2、按样本鲜重计算：

$$\begin{aligned} \text{补体 C4(mg/g 鲜重)} &= (C_{\text{标准}} \times V2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= C_{\text{标准}} \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div W \times D \end{aligned}$$

### 3、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{补体 C4(mg/10}^6\text{cell)} &= (C_{\text{标准}} \times V2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (5 \times V1 \div V) \times D \\ &= C_{\text{标准}} \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div 5 \times D \end{aligned}$$

C 标准---标品浓度，参看试剂盒组分；

V---提取液，1mL；

W---样本质量，g；

5---细胞数量，百万；

V1---加入样本体积，0.002mL；

V2---加入准品体积，0.002mL；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。