人补体成分 4a (C4a)ELISA Kit

Catalog Numaer: BSKH60919

本试剂盒用于定量检测人血清、血浆、其他生物液体等样本中补体成分 4a (C4a)含量。**使用前请仔细阅读说明书并检查试剂组分**，如有任何疑问请与北京博奥森生物技术有限公司联系，公司将为您提供强有力的技术支持。

仅供研究，不用于临床诊断。

目录

检测原理.....3

试剂盒组成.....3

其它实验材料.....3

注意事项.....4

样本收集、处理及保存方法.....4

试剂准备.....5

操作步骤.....5

结果判断.....6

试剂盒性能.....7

检测范围.....7

灵敏度.....7

检测原理：

本试剂盒采用 ELISA 双抗体夹心法原理。用纯化的补体成分 4a (C4a)抗体包被微孔板，向已包被的微孔板中依次加入标准品及待测样本，待其与包被抗体充分结合后，再与生物素化的 C4a 抗体结合，其后加入辣根过氧化物酶（HRP）标记的链霉亲和素，生物素与链霉亲和素形成高强度的非共价结合，经过彻底洗涤后加入底物 TMA 显色。TMA 在 HRP 酶的催化作用下转化成蓝色，并在酸的作用下最终转化成黄色。颜色的深浅和样本中的 C4a 含量呈正相关。用酶标仪在 450nm 波长下测定吸光值（OD 值），通过绘制标准曲线计算样本中 C4a 浓度。

试剂盒组成：

试剂盒组成	规格（96T）	保存条件
抗体包被板条	8×12	-20℃保存
标准品	2 瓶	-20℃保存
稀释液	45ml×1 瓶	-20℃保存
检测溶液 A	120μl×1 支	-20℃保存
检测溶液 A	120μl×1 支	-20℃保存
浓缩洗涤液（30×）	20ml×1 瓶	2-8℃保存
显色底物（避光）	9ml×1 瓶	2-8℃保存
终止液	6ml×1 瓶	2-8℃保存
封板胶纸	4 张	
说明书	1 份	

其它实验材料（不提供，但可协助购买）：

1.酶标仪(波长 450nm)

2.高精度可调移液器（已校准）及吸头：0.5-10,2-20,20-200,200-1000μl。

一次检测样本较多时，建议使用多通道移液器。

3.自动洗板机或洗瓶

4.37℃温箱

5.双蒸水或去离子水

6.坐标纸

7.量筒

注意事项：

1.试剂盒保存在 4℃& -20℃，已复溶但未用完的标准品，建议丢弃。不可混合使用不同来源或不同批号的试剂盒组分，请在有效期内使用本产品。

2.浓缩洗涤液低温取出可能会伴有结晶析出，稀释时可在水浴中加热助溶，不影响使用。

3.各步加样均应使用移液器，并经过校准，以免产生误差。建议一次加样时间最好控制在 5 分钟内，如样本数量较多，推荐使用排枪加样。

4.请每次测定的同时做标准曲线，最好做复孔。如样本中待测物质含量高于试剂盒检测上限（样本 OD 值大于标准品孔第一孔的 OD 值），请先用样本稀释液稀释一定的倍数（n 倍）后再测定，计算时需乘以总稀释倍数。

5.为避免交叉污染，在加入不同浓度的标准品、不同样本、不同试剂时谨记及时更换吸头，封板胶纸只限一次性使用。

6.显色底物请避光保存。

7.严格按照说明书的操作进行，试验结果判定必须以酶标仪读数为准。

样本收集、处理及保存方法：

1.血清：室温血液自然凝固 60-120 分钟，1000g 离心 20 分钟，收集上清，若保存过程中出现沉淀，应再次离心，避免反复冻融。

2.血浆：根据样本的要求选择 EDTA 或柠檬酸作为抗凝剂， 1000g 离心 20 分钟左右，收集上清，若保存过程中出现沉淀，应再次离心。

3.其它生物样本：检测分泌性的成分时，用无菌管收集，1000g 离心 20 分钟左右，收集上清。

4.若样本无法立即检测，请将其按最小使用量分装，-20℃ —-70℃保存，避免反复冻融。尽量避免使用溶血或高血脂样本。

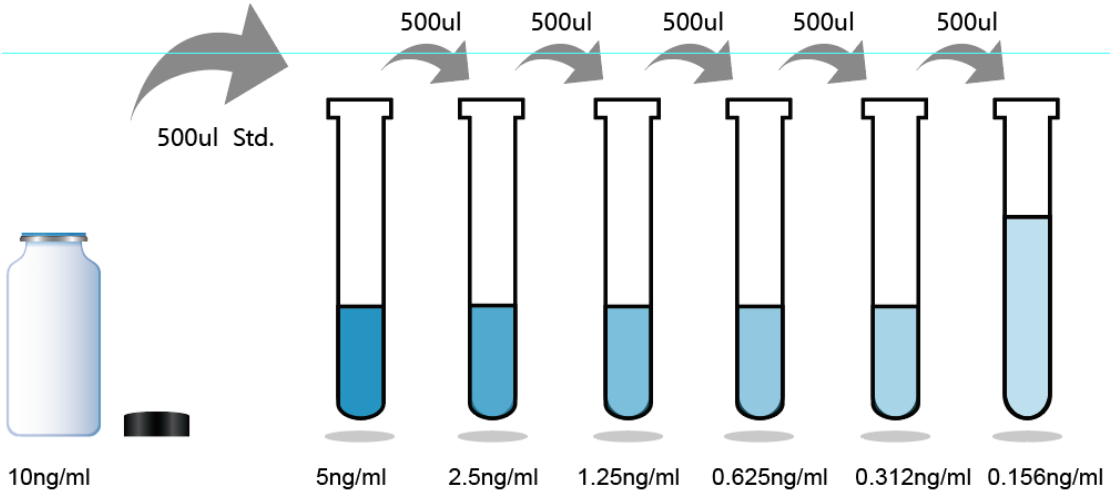
试剂准备：

1.试剂回温：请在实验前将试剂盒和待测样本置于室温下回温。

2.洗涤液配制：根据浓缩洗液的浓缩倍数，用双蒸水或去离子水进行相应倍数稀释后备用。

3.标准品梯度稀释：取 1ml 标准品/样本稀释液（S1）至冻干标准品中，静置 15 分钟待其完全溶解后轻轻混匀(浓度为 10ng/ml)，然后取 6 只聚丙烯试管，各加入 500μl 稀释

液，按照以下浓度进行 2 倍稀释：5、2.5、1.25、0.625、0.312、0.156 ng/ml 进行稀释。10ng/ml 为标准曲线最高点浓度，稀释液作为标准曲线的零点（0ng/ml）。复溶过的标准品原液（10ng/ml）未用完的应废弃。



4.检测溶液A及检测溶液A：在使用前请手甩几下或少时离心处理，以使管壁或瓶盖的液体沉积到管底。临用前分别以稀释液 1:100稀释(如：10μL检测溶液A/990μL稀释液)，充分混匀， 稀释前根据预先计算好的每次实验所需的总量配制(100μL/孔)， 实际配制时应多配制0.1-0.2mL。

操作步骤：

1.加样：根据试验所需用量，取出相应抗体包被板条，分别将已配制好的标准品、标准品零点及待测样本以 100μl/孔加入实验孔底部。

2.温育：用封板胶纸封板后置 37℃温育 120min。

3.弃去液体，甩干，不用洗涤。

4.加检测溶液 A 工作液（临用前配制）：每孔加入检测溶液 A 工作液 100μl。

5.温育：用封板胶纸封板后置 37℃温育 60 min。

6.洗涤：小心揭掉封板胶纸，弃去液体，甩干，每孔加满洗涤液（350μl），静置 1-2min 后弃去，如此重复 3 次，最后 于吸水纸上拍干。

7.加检测溶液 A 工作液（临用前配制）：每孔加入检测溶液 A 工作液 100μl。

8.温育：用封板胶纸封板后置 37℃温育 60 min。

9.洗涤：同上述洗涤过程（步骤 5），洗板 5 次。

10.显色：每孔加入 90μl 显色底物溶液，用封板胶纸封板后 置 37℃显色 15-25min。

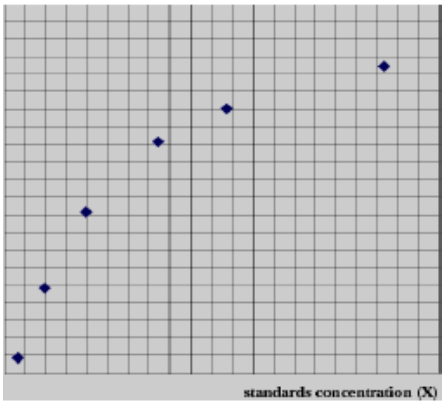
11.终止：每孔加终止液 50μl（此时蓝色立转黄色）。

12.测定：用酶标仪 450nm 波长测定各孔的吸光度（OD 值 ），测定应在加终止液后 5min 以内进行。

结果判定：

1.每个标准品和样本的 OD 值减去空白孔的 OD 值，为最终数值，如果做复孔,求其平均值。

2.使用计算机软件以吸光度 OD 值为纵坐标(Y)，相应的 C4a 标准品浓度为横坐标(X)，生成相应的标准曲线，样本的 C4a 含量可根据其 OD 值由标准曲线换算出相应的浓度。若样本 OD 值高于标准品曲线上限，请做适当倍数稀释，计算样本浓度时需乘以相应稀释倍数。



本图仅供参考，应以同次试验标准品所绘标准曲线为准

试剂盒性能：

批内与批间差应小于 10%

检测范围：

0.156 ng/ml -10 ng/ml

灵敏度：

0.058 ng/ml