

---

# 人补体成分 5a(C5a)ELISA Kit

**Catalog Number: bsk11176**

本试剂盒用于定量检测人血清、血浆或细胞培养上清液等样本中  
补体成分 5a(C5a)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 5a(C5a)抗体包被微孔板，向已包被的板微孔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 HRP 标记的 C5a 抗体结合，经过彻底洗涤后加入底物 TMB 显色。TMB 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 C5a 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 C5a 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	2-8℃保存
标准品	0.3 ml ×6 支	2-8℃保存
HRP 标记抗体	10 ml×1 瓶	2-8℃保存
样本稀释液	6ml×1 瓶	2-8℃保存
浓缩洗涤液 (20×)	25ml×1 瓶	2-8℃保存
显色底物 A (避光)	6ml×1 瓶	2-8℃保存
显色底物 B (避光)	6ml×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(主波长 450nm, 参考波长 630nm)
- 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 2-8°C。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 30 分钟，离心 20 分钟（2000-3000 转/分）。仔细收集上清，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，离心 20 分钟左右（2000-3000 转/分）。仔细收集上清，若保存过程中出现沉淀，应再次离心。
- 3.细胞上清液：检测分泌性的成分时，用无菌管收集。离心 20 分钟左右（2000-3000 转/分）。仔细收集上清。
- 4.若样本无法立即检测，请将其按最小使用量分装，-20°C—70°C保存，避免反复冻融。尽量避免使用溶血或高血脂样本。如果血清中含有大量颗粒，检测前先离心或过滤去除；室温下解冻，请勿于 37°C 或更高的温度加热解冻。
- 5.不能检测含 NaN<sub>3</sub> 的样本，因 NaN<sub>3</sub> 抑制辣根过氧化物酶的活性。
- 6.请根据实际情况，将样本做适当倍数稀释（建议根据预试验结果确定稀释倍数）。

**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.显色液：底物A 和 B在使用前按 1:1 体积充分混合，混合后 15 分钟内使用。

#### **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（样本稀释液）及待测样本以 50  $\mu$ l/孔加入实验孔底部。

2.加酶标抗体：每孔加入酶标抗体 100  $\mu$ l。

3.温育：用封板胶纸封板后置 37°C 温育 60min。

4.洗涤：小心揭掉封板胶纸，弃去液体，甩干，每孔加满洗涤液（350  $\mu$ l），静置 30 秒后弃去，如此重复 4 次，最后于吸水纸上拍干。

5.显色：每孔加入 100  $\mu$ l 配制好的显色底物，用封板胶纸封板后置 37°C 显色 10-20min。

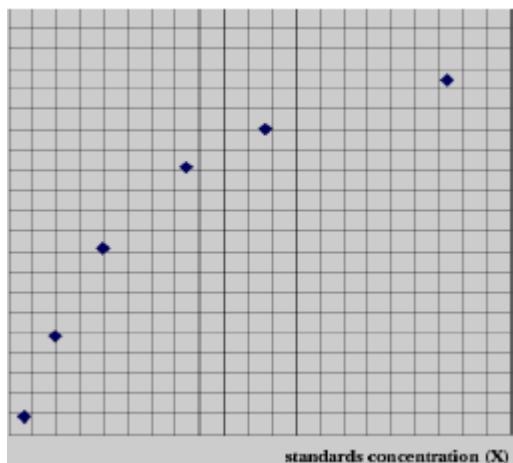
6.终止：每孔加终止液 50  $\mu$ l（此时蓝色立转黄色）。

7.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 C5a 标准品浓度为横坐标(X)，生成相应的标准曲线，样本的 C5a 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:

156.25 pg/ml -5000 pg/ml

灵敏度:

78 pg/ml