



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101403747 B

(45) 授权公告日 2012. 08. 29

(21) 申请号 200810162080. 5

(22) 申请日 2008. 11. 07

(73) 专利权人 浙江伊利康生物技术有限公司

地址 325011 浙江省温州市经济开发区高科技园区 27 号小区

(72) 发明人 王贤理 蒙凯 蔡其浩 蔡伟伟

(74) 专利代理机构 杭州九洲专利事务所有限公司 33101

代理人 王洪新

8 卷 (第 3 期), 第 222 页第 1 栏和第 224 页第 1 栏 .

王立军等 . 生化分析仪上两种透射比浊试剂干扰因素的比较 . 《检验医学》. 2006, 第 21 卷 (第 2 期), 第 109-112 页 .

杨洁霞等 . 人血清补体 C₃、C₄ 定时散射比浊分析检测试剂的研制 . 《热带医学杂志》. 2008, 第 8 卷 (第 3 期), 第 222 页第 1 栏和第 224 页第 1 栏 .

审查员 沈晶晶

(51) Int. Cl.

G01N 33/53 (2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101000349 A, 2007. 07. 18, 说明书第 1 页第 17 行至第 7 页第 8 行 .

CN 101000349 A, 2007. 07. 18, 说明书第 1 页第 17 行至第 7 页第 8 行 .

杨洁霞等 . 人血清补体 C₃、C₄ 定时散射比浊分析检测试剂的研制 . 《热带医学杂志》. 2008, 第

权利要求书 4 页 说明书 7 页

(54) 发明名称

补体 3 检测试剂

(57) 摘要

本发明涉及一种用于测定人体体液成份的试剂组合。目的是提供一种 C₃检测试剂,该试剂应具有操作简单、测定数据准确度高、重复性好、抗干扰能力强的特点,并且适用于各种类型的全自动生化分析仪。技术方案是:补体 4 检测试剂,包括:a、一种使样品中 C₃抗原位点充分暴露、从而有利于与抗 C₃抗体试剂充分结合的 C₃反应剂, b、一种与人血清中的 C₃抗原有高度特异反应性的抗 C₃抗体试剂, c、一种用来与样品比较、进行结果计算的液体血清型恒定值校准剂,包括的成分及所占重量百分比为:防腐剂 0. 01-1、稳定剂 0. 1-1、防霉剂 0. 05-0. 1 和适量 C₃抗原,其余是 20-100mmol/L 缓冲剂。

CN 101403747 B

1. 补体 3 检测试剂,其特征在于该试剂包括:

1) C₃ 反应剂 R1

磷酸盐缓冲剂	100 mmol/L
聚氧乙烯月桂醚	5 %
NaCl	10 %
PEG-6000	4.5 %
广谱杀菌剂	0.1 %
溴化己二甲胺	0.3 %
乙二胺四乙酸二钠	0.05 %

2) 抗 C₃ 抗体试剂 R2

磷酸盐缓冲剂	100 mmol/L
聚氧乙烯月桂醚	5 %
NaCl	0.9 %
PEG-6000	4 %
叠氮钠	0.4 %
乙二胺四乙酸二钠	0.05 %
兔抗人 C ₃ 抗血清	25 %
丁基羟基茴香醚	0.01 %
甘露糖醇	5 %

3) 液体血清型 C₃ 恒定值校准剂

CAPSO 缓冲剂	100mmol/L
广谱杀菌剂	0.01 %
乙二胺四乙酸二钠	0.1 %
牛血清白蛋白	0.5 %
丙酸钠	0.05 %

液体血清型恒定值校准剂分为五份,将 C₃ 抗原按照第 1 点为 0g/L、第 2 点为 0.55g/

L、第 3 点为 1.10g/L、第 4 点为 1.60g/L、第 5 点为 2.20g/L 加入上述五份溶液中,然后用 0.22 μm 的滤膜抽滤除菌,放 2-8℃ 保存;或者将试剂 R1 与 R2 按 3 : 1 的体积比例混合,以作为单一试剂使用;

除缓冲剂外,各成分含量均为所占重量百分比。

2. 补体 3 检测试剂,其特征在于该试剂包括:

1) C₃ 反应剂 R1

TAPS 缓冲剂	5mmol/L
聚氧乙烯辛基苯醚	0.1 %
NaCl	0.1 %
PEG-4000	7 %
广谱杀菌剂	0.01 %
聚凝胺	0.1 %
氯化镁	1.0 %

2) 抗 C₃ 抗体试剂 R2

TAPS 缓冲剂	5mmol/L
聚氧乙烯辛基苯醚	0.1 %
NaCl	0.1 %
PEG-8000	8 %
广谱杀菌剂	0.01 %
乙二胺四乙酸二钠	2 %
羊抗人 C ₃ 抗血清	45 %
苯多酚	0.5 %
氯化镁	1 %

3) 液体血清型恒定值 C₃ 校准剂

PBS 缓冲剂	20mmol/L
苯酚	1 %
丙三醇	1 %
牛血清白蛋白	1 %
脱氧乙酸	0.1 %

液体血清型恒定值校准剂分为五份,将 C₃ 抗原按照第 1 点为 0g/L、第 2 点为 0.55g/L、第 3 点为 1.10g/L、第 4 点为 1.60g/L、第 5 点为 2.20g/L 加入上述五份溶液中,然后用 0.22 μm 的滤膜抽滤除菌,放 2-8℃ 保存;或者将试剂 R1 与 R2 按 7 : 1 的体积比例混合,以作为单一试剂使用;

除缓冲剂外,各成分含量均为所占重量百分比。

3. 补体 3 检测试剂,其特征在于该试剂包括:

1) C₃ 反应剂 R1

PIPES 缓冲剂	150 mmol/L
聚氧乙烯壬基苯基醚	10 %
NaCl	5 %
PEG-8000	2 %
对羟基苯甲酸	1 %
聚凝胺	0.5 %
海藻糖	1 %

2) 抗 C₃ 抗体试剂 R2

PIPES 缓冲剂	150 mmol/L
聚氧乙烯壬基苯基醚	5 %
NaCl	5 %
PEG-6000	2 %
广谱杀菌剂	1 %
乙二胺四乙酸二钠	0.05 %
马抗人 C ₃ 抗血清	20 %
二丁基羟基甲苯	0.3 %
丙三醇	10 %
3) 液体血清型恒定值 C ₃ 校准剂	
甘氨酸缓冲剂	100mmol/L
广谱杀菌剂	0.06 %
乙二胺四乙酸二钠	0.5 %
牛血清白蛋白	0.5 %
丙酸钠	0.8 %

液体血清型恒定值校准剂分为五份,将 C₃ 抗原按照第 1 点为 0g/L、第 2 点为 0.55g/L、第 3 点为 1.10g/L、第 4 点为 1.60g/L、第 5 点为 2.20g/L 加入上述五份溶液中,然后用 0.22 μm 的滤膜抽滤除菌,放 2-8℃ 保存;或者将试剂 R1 与 R2 按 4 : 1 的体积比例混合,以作为单一试剂使用;

除缓冲剂外,各成分含量均为所占重量百分比。

补体 3 检测试剂

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于测定人体体液成份的试剂组合,特别是测定人体血清中的补体 3(C_3) 的检测试剂,可广泛应用在医学及生物化学技术领域。

背景技术

[0002] 补体是存在于血清及组织液中的一组具有酶样活性的球蛋白。补体系统由 20 多种血浆蛋白和血细胞受体组成,约占血清总蛋白的 10%,其中 C_3 在血清中含量最高,是在补体系统中起关键作用的成分,3 条补体激活途径都要经过 C_3 活化才能实现。补体 3(C_3) 分子量为 190000,主要由巨噬细胞和肝脏合成,在 C_3 转化酶的作用下,裂解成 $C3a$ 与 $C3b$ 二个片段。人体血清中 C_3 浓度的增高,常见于急性炎症,传染病早期,肿瘤等。人体血清中 C_3 浓度的降低,常见于系统性红斑狼疮活动期,冷球蛋白血症,急性肾小球肾炎,基底膜增殖性肾小球肾炎,肝脏疾病等。

[0003] 已知测定补体 3(C_3) 的方法有免疫扩散法、免疫电泳法、放射免疫分析法、这些方法都存在着操作繁琐,需要特殊的设备,样品需要预处理,不能进行批量样本分析和不能直接上全自动生化分析仪检测等缺点。

发明内容

[0004] 本发明的目的是克服上述背景技术的不足,提供一种 C_3 检测试剂,其应具有操作简单、测定数据准确度高、重复性好、抗干扰能力强的特点,并且适用于各种类型的全自动生化分析仪。

[0005] 本发明提供的技术方案是:补体 3 检测试剂,包括:

[0006] a、一种使样品中 C_3 抗原位点充分暴露、从而有利于与抗 C_3 抗体试剂充分结合的 C_3 反应剂,包括的成分及所占重量百分比为:防腐剂 0.01-1、稳定剂 0.05-1、电解质 0.1-10、高分子加速剂 2-8、表面活性剂 0.1-10 和反应促进剂 0.1-0.5,其余是 5-200mmol/L 的缓冲剂;

[0007] b、一种与人血清中的 C_3 抗原有高度特异反应性的抗 C_3 抗体试剂,包括的成分及所占重量百分比为:抗 C_3 抗体 5-50、抗氧化剂 0.001-0.5 和稳定剂 0.05-20,还包括防腐剂 0.01-1、电解质 0.1-10、高分子加速剂 2-8、表面活性剂 0.1-10,其余是 5-200mmol/L 的缓冲剂;

[0008] c、一种用来与样品比较、进行结果计算的液体血清型恒定值校准剂,包括的成分及所占重量百分比为:防腐剂 0.01-1、稳定剂 0.1-1、防霉剂 0.05-0.1 和适量 C_3 抗原,其余是 20-100mmol/L 缓冲剂。

[0009] 所述的液体血清型恒定值校准剂分为五份,其中四份校准剂中加入的 C_3 抗原含量分别是 0.20-0.6g/L、0.7-1.4g/L、1.5-1.8g/L、2.0-3.0g/L,另 1 份 C_3 抗原不加。

[0010] 所述的四份校准剂中加入的 C_3 抗原含量分别是 0.55g/L、1.10g/L、1.60g/L 和 2.20g/L。

- [0011] 所述的抗 C₃ 抗体来自羊、马、鼠或兔等哺乳动物。
- [0012] 所述的稳定剂选自乙二胺四乙酸二钠、氯化镁、牛或人血清白蛋白乙二醇、丙三醇、甘露糖醇、海藻糖中的一种或多种。
- [0013] 所述的校准剂中的缓冲液选自 PBS、Tris、TAPS、HEPPS、CHES、CAPS、CAPSO、POPSO、Tricie、甘氨酸、双甘氨酸、二甘氨酸、硼酸盐中的一种或多种，PH 值为 5-10。
- [0014] 所述的 C₃ 反应剂及抗 C₃ 抗体试剂中的缓冲液选自磷酸盐缓冲液、三羟甲基氨基甲烷缓冲液、PIPES 缓冲液、HEPES 缓冲液、TAPS 缓冲液、甘氨酸缓冲液、硼酸缓冲液中的一种或多种，PH 值为 5-10。
- [0015] 所述的 C₃ 反应剂及抗 C₃ 抗体试剂中的缓冲液优选磷酸盐，PH 值为 7.4-8.1。
- [0016] 所述的表面活性剂选自非离子表面活性剂、阳离子表面活性剂、阴离子表面活性剂或两性离子表面活性剂中的一种或多种。
- [0017] 所述的中的表面活性剂优选非离子表面活性剂。
- [0018] 所述的电解质可以是阴离子电解质或阳离子电解质。
- [0019] 所述的电解质优选阳离子电解质中的氯化钠。
- [0020] 所述的防腐剂选自叠氮钠、乙基汞硫代硫酸钠、对羟基苯甲酸、对羟基苯甲酸乙酯、苯酚、广谱杀菌剂中的一种或多种。
- [0021] 本发明的原理是利用抗原抗体反应，加入反应剂，即样品稀释液，解除样本中抗原周围的电子层和水化层，使抗原位点充分暴露，然后加入抗 C₃ 抗体试剂；高特异反应性的抗 C₃ 抗体试剂与样本中相应的 C₃ 抗原反应，形成不溶性的抗原-抗体复合物，产生一定的浊度，其浊度高低与样本中的 C₃ 含量成正比，在规定波长下测定该不溶性抗原-抗体复合物的吸光度值，与已知恒定的校准剂比较，通过公式
- [0022]

$$C_3 \text{ 含量 (g/L)} = \frac{\Delta A_U}{\Delta A_S} \times C_S \text{ (g/L)}$$

- [0023] 式中： ΔA_U 为以空白管吸光度为对照的样品管吸光度
- [0024] ΔA_S 为以空白管吸光度为对照的校准管吸光度
- [0025] C_S 为校准剂中 C₃ 的浓度
- [0026] 可计算出样本中 C₃ 的含量。
- [0027] 本发明提供的试剂使用时测得的数据准确度高、重复性好、抗干扰能力强；
- [0028] 并且由于样本不用预稀释，采用血清型液体恒定值校准液后不需每批更改参数，因而操作简单，还能广泛适用于各种类型的全自动生化分析仪。

具体实施方式

- [0029] 本发明所提供的补体 3 检测试剂包括以下成份：
- [0030] a、一种使样品中 C₃ 抗原位点充分暴露，有利于与抗 C₃ 抗体试剂充分结合的 C₃ 反应剂（即样品稀释液），包括防腐剂 0.01-1、稳定剂 0.05-1、电解质 0.1-10、高分子加速剂 2-8，还可包括表面活性剂 0.1-10 和反应促进剂 0.1-0.5，其余是 5-200mmol/L 缓冲剂；上述防腐剂、稳定剂、电解质、高分子加速剂、表面活性剂及反应促进剂的含量均为在 C₃ 反应

剂中所占的重量百分比。

[0031] b、一种与人血清中的 C₃ 抗原有高度特异反应性的抗 C₃ 抗体试剂,包括抗 C₃ 抗体 5-50、抗氧化剂 0.001-0.5 和稳定剂 0.05-20,以及防腐剂 0.01-1、电解质 0.1-10、高分子加速剂 2-8 和表面活性剂 0.1-10,其余是 5-200mmol/L 缓冲剂;上述抗 C₃ 抗体、抗氧化剂、稳定剂、防腐剂、电解质、高分子加速剂及表面活性剂的含量均为在抗 C₃ 抗体试剂中所占的重量百分比。

[0032] 作为单试剂使用时,上述 C₃ 反应剂和抗 C₃ 抗体试剂可以按 3:1 的体积比例进行组合搭配,也可以是 4:1、5:1、或 7:1。

[0033] 以上所述的各成分中:

[0034] 缓冲剂可以是磷酸盐缓冲液、三羟甲基氨基甲烷缓冲液、PIPES 缓冲液、HEPES 缓冲液、TAPS 缓冲液、甘氨酸缓冲液或硼酸缓冲液等,本发明优选磷酸盐缓冲液;缓冲液的 PH 值为 5-10,本发明优选 PH 值为 7.4-8.1,在此范围内反应效果最好;

[0035] 防腐剂可以是叠氮钠、乙基汞硫代硫酸钠、对羟基苯甲酸、对羟基苯甲酸乙酯、苯酚或广谱杀菌剂,本发明从环保角度考虑,优选广谱杀菌剂;

[0036] 稳定剂的可以是乙二胺四乙酸二钠、氯化镁、牛(人)血清白蛋白乙二醇、甘露糖醇或海藻糖;

[0037] 电解质的可以是阴离子或阳离子,本发明优选阳离子中的氯化钠(NaCl);

[0038] 加速剂可以是聚乙二醇 2000、聚乙二醇 4000、聚乙二醇 6000 或聚乙二醇 8000,本发明优选聚乙二醇 6000;

[0039] 表面活性剂可以是非离子表面活性剂、阳离子表面活性剂、阴离子表面活性剂或两性离子表面活性剂,本发明优选非离子表面活性剂,包括:Theist、Tween 系列、聚氧乙烯月桂醚系列、聚氧乙烯苯基醚、聚氧乙烯辛基苯基醚、聚氧乙烯烷基苯基醚、聚氧乙烯壬基苯基醚等,这些表面活性剂可以单独使用,也可以两种或两种以上混合使用;

[0040] 反应促进剂可以是溴化己二甲胺或聚凝胺;

[0041] 抗 C₃ 抗体可以是羊抗人 C₃ 抗血清、马抗人 C₃ 抗血清、鼠抗人 C₃ 抗血清、兔抗人 C₃ 抗血清等,这些血清均可外购获得,也可自制;

[0042] 抗氧化剂可以是丁基羟基茴香醚、硫代二丙酸二月桂酯、二丁基羟基甲苯、苯多酚、甘草抗氧化物、磷脂等。抗氧化剂可以先溶解在 10-100ml 丙二醇或乙醇中,然后加入到抗 C₃ 抗体试剂中。

[0043] c、一种用来与样品比较、进行结果计算的液体血清型恒定值校准剂,包括防腐剂 0.01-1、稳定剂 0.1-1、防霉剂 0.05-0.1 和适量 C₃ 抗原,其余是 20-100mmol/L 缓冲剂;防腐剂、稳定剂、防霉剂的含量均为在校准剂中所占的重量百分比。

[0044] 液体血清型恒定值校准剂分为五份,五份校准剂中分别按以下浓度值加入 C₃ 抗原:

[0045] 第 1 点为 0g/L,可用生理盐代替;

[0046] 第 2 点为 0.20-0.6g/L,本发明优选 0.55g/L;

[0047] 第 3 点 0.7-1.4g/L,本发明优选 1.10g/L;

[0048] 第 4 点 1.5-1.8g/L,本发明优选 1.60g/L;

[0049] 第 5 点 2.0-3.0g/L;本发明优选 2.20g/L;

[0050] C₃ 抗原可直接外购,或者自制。本发明的标准配置为每个双试剂和 / 或单试剂配置有 4 瓶 C₃ 浓度相异的校准剂,另外 1 瓶校准剂中 C₃ 浓度为零。

[0051] 所述的缓冲剂可以是 PBS、Tris、TAPS、、HEPPS、CHES、CAPS、CAPSO、POPSO、Tricie、甘氨酸、双甘氨酸、二甘氨酸、硼酸盐等；

[0052] 防腐剂可以是叠氮钠、乙基汞硫代硫酸钠、对羟基苯甲酸、对羟基苯甲酸乙酯、苯酚、广谱杀菌剂等,可以单独使用或几种混合使用；

[0053] 防霉剂可以是丙酸钠、脱氧乙酸等,也可单独使用或几种混合使用；

[0054] 稳定剂可以是乙二胺四乙酸二钠、氯化镁、牛(人)血清白蛋白、丙三醇、单糖、多糖等,可以单独使用或几种混合使用。

[0055] 以上所述的所有生化原料和试剂均可外购获得。

[0056] 本发明制备获得的产品在 2 ~ 8℃ 避光条件下有效期为一年。

[0057] 以下实施例中的各成分含量,除标有明确的单位之外,均为所占重量百分比。

[0058] 实施例一：

[0059] 1、C₃ 反应剂 (R1)

[0060] 磷酸盐(缓冲剂) 100mmol/L

[0061] 聚氧乙烯月桂醚(表面活性剂) 5

[0062] NaCl(电解质) 10

[0063] PEG-6000(高分子加速剂) 4.5

[0064] 广谱杀菌剂(防腐剂) 0.1

[0065] 溴化己二甲胺(反应促进剂) 0.3

[0066] 乙二胺四乙酸二钠(稳定剂) 0.05

[0067] 2、抗 C₃ 抗体试剂 (R2)

[0068] 磷酸盐(缓冲剂) 100mmol/L

[0069] 聚氧乙烯月桂醚(表面活性剂) 5

[0070] NaCl(电解质) 0.9

[0071] PEG-6000(高分子加速剂) 4

[0072] 叠氮钠(防腐剂) 0.4

[0073] 乙二胺四乙酸二钠(稳定剂) 0.05

[0074] 兔抗人 C₃ 抗血清 25

[0075] 丁基羟基茴香醚(抗氧化剂) 0.01

[0076] 甘露糖醇(稳定剂) 5

[0077] 3、液体血清型 C₃ 恒定值校准剂

[0078] CAPSO(缓冲剂) 100mmol/L

[0079] 广谱杀菌剂(防腐剂) 0.01

[0080] 乙二胺四乙酸二钠(稳定剂) 0.1

[0081] 牛血清白蛋白(稳定剂) 0.5.

[0082] 丙酸钠(防霉剂) 0.05

[0083] 液体血清型恒定值校准剂分为五份,按照不同的浓度标准(第 1 点为 0g/L,第 2 点为 0.55g/L;第 3 点为 1.10g/L;第 4 点为 1.60g/L;第 5 点为 2.20g/L)将 C₄ 抗原加入上述

五份溶液中,然后用 0.22 μm 的滤膜抽滤除菌,放 2-8 $^{\circ}\text{C}$ 保存。也可将试剂 (R1) 与 (R2) 按 3:1 的体积比例混合,以作为单一试剂使用。

[0084] 实施例二:

[0085]	1、 C_3 反应剂 (R1)	
[0086]	TAPS(缓冲剂)	5mmol/L
[0087]	聚氧乙烯辛基苯醚(表面活性剂)	0.1
[0088]	NaCl(电解质)	0.1
[0089]	PEG-4000(高分子加速剂)	7
[0090]	广谱杀菌剂(防腐剂)	0.01
[0091]	聚凝胺(反应促进剂)	0.1
[0092]	氯化镁(稳定剂)	1.0
[0093]	2、抗 C_3 抗体试剂 (R2)	
[0094]	TAPS(缓冲剂)	5mmol/L
[0095]	聚氧乙烯辛基苯醚(表面活性剂)	0.1
[0096]	NaCl(电解质)	0.1
[0097]	PEG-8000(高分子加速剂)	8
[0098]	广谱杀菌剂(防腐剂)	0.01
[0099]	乙二胺四乙酸二钠(稳定剂)	2
[0100]	羊抗人 C_3 抗血清	45
[0101]	苯多酚(抗氧化剂)	0.5
[0102]	氯化镁(稳定剂)	1
[0103]	3、液体血清型恒定值 C_3 校准剂	
[0104]	PBS(缓冲剂)	20mmol/L
[0105]	苯酚(防腐剂)	1
[0106]	丙三醇(稳定剂)	1
[0107]	牛血清白蛋白(稳定剂)	1
[0108]	脱氧乙酸(防霉剂)	0.1

[0109] 液体血清型恒定值校准剂分为五份,将 C_4 抗原按照第 1 点为 0g/L,第 2 点为 0.55g/L;第 3 点为 1.10g/L;第 4 点为 1.60g/L;第 5 点为 2.20g/L 加入上述五份溶液中,然后用 0.22 μm 的滤膜抽滤除菌,放 2-8 $^{\circ}\text{C}$ 保存。也可将试剂 (R1) 与 (R2) 按 7:1 的体积比例混合,以作为单一试剂使用。

[0110] 实施例三:

[0111]	1、 C_3 反应剂 (R1)	
[0112]	PIPES(缓冲剂)	150mmol/L
[0113]	聚氧乙烯壬基苯基醚(表面活性剂)	10
[0114]	NaCl(电解质)	5
[0115]	PEG-8000(高分子加速剂)	2
[0116]	对羟基苯甲酸(防腐剂)	1
[0117]	聚凝胺(反应促进剂)	0.5

- [0118] 海藻糖（稳定剂） 1
- [0119] 2、抗 C₃ 抗体试剂 (R2)
- [0120] PIPES(缓冲剂) 150mmol/L
- [0121] 聚氧乙烯壬基苯基醚（表面活性剂） 5
- [0122] NaCl(电解质) 5
- [0123] PEG-6000(高分子加速剂) 2
- [0124] 广谱杀菌剂（防腐剂） 1
- [0125] 乙二胺四乙酸二钠（稳定剂） 0.05
- [0126] 马抗人 C₃ 抗血清 20
- [0127] 二丁基羟基甲苯（抗氧化剂） 0.3
- [0128] 丙三醇（稳定剂） 10
- [0129] 3、液体血清型恒定值 C₃ 校准剂
- [0130] 甘氨酸（缓冲剂） 100mmol/L
- [0131] 广谱杀菌剂（防腐剂） 0.06
- [0132] 乙二胺四乙酸二钠（稳定剂） 0.5
- [0133] 牛血清白蛋白（稳定剂） 0.5.
- [0134] 丙酸钠（防腐剂） 0.8
- [0135] 液体血清型恒定值校准剂分为五份,将 C₄ 抗原按照第 1 点为 0g/L,第 2 点为 0.55g/L;第 3 点为 1.10g/L;第 4 点为 1.60g/L;第 5 点为 2.20g/L 加入上述五份溶液中,然后用 0.22 μm 的滤膜抽滤除菌,放 2-8℃ 保存。也可将试剂 (R1) 与 (R2) 按 4:1 的体积比例混合,以作为单一试剂使用。
- [0136] 以下为测定样品中 C₃ 含量的具体操作步骤,检测仪器为具有 340nm 波长,37℃ 恒温装置的生化分析仪:
- [0137] 一、双试剂基本操作:
- [0138]

加入物	空白管	校准管	样品管
R1 (μl)	225	225	225
生理盐水 (μl)	3	—	—
校准剂 (μl)	—	3	—
待测样品 (μl)	—	—	3
混匀, 37℃ 孵育 5 分钟			
R2 (μl)	75	75	75

[0139]

混匀，37℃孵育 5 分钟，在波长 340nm 处以空白管调零，读取各管的吸光度值。

[0140] 将测量出的结果通过下列公式进行计算：

[0141]

$$C_3 \text{ 含量 (g/L)} = \frac{\Delta A_U}{\Delta A_S} \times C_s \text{ (g/L)}$$

[0142] 式中： ΔA_U 为以空白管吸光度为对照的样品管吸光度

[0143] ΔA_S 为以空白管吸光度为对照的校准管吸光度

[0144] C_s 为校准剂中 C_3 的浓度

[0145] 便可计算出该样本中的 C_3 含量。

[0146] 二、单试剂基本操作：

[0147]

加入物	空白管	校准管	样品管
R (μ l)	500	500	500
蒸馏水 (μ l)	5	—	—
校准剂 (μ l)	—	5	—
待测样品 (μ l)	—	—	5

混匀，37℃孵育 5 分钟，在波长 340nm 处以空白管调零，读取各管的吸光度值。

[0148] 将测量出的结果通过下列公式进行计算：

[0149]

$$C_3 \text{ 含量 (g/L)} = \frac{\Delta A_U}{\Delta A_S} \times C_s \text{ (g/L)}$$

[0150] 式中： ΔA_U 为以空白管吸光度为对照的样品管吸光度

[0151] ΔA_S 为以空白管吸光度为对照的校准管吸光度

[0152] C_s 为校准剂中 C_3 的浓度

[0153] 便可计算出该样本中的 C_3 含量。

专利名称(译)	补体3检测试剂		
公开(公告)号	CN101403747B	公开(公告)日	2012-08-29
申请号	CN200810162080.5	申请日	2008-11-07
[标]申请(专利权)人(译)	王贤理		
申请(专利权)人(译)	王贤理		
当前申请(专利权)人(译)	浙江伊利康生物技术有限公司		
[标]发明人	王贤理 蒙凯 蔡其浩 蔡伟伟		
发明人	王贤理 蒙凯 蔡其浩 蔡伟伟		
IPC分类号	G01N33/53		
代理人(译)	王洪新		
审查员(译)	沉晶晶		
其他公开文献	CN101403747A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)	磷酸盐缓冲剂	100 mmol/L
<p>本发明涉及一种用于测定人体体液成份的试剂组合。目的是提供一种C3检测试剂，该检测试剂应具有操作简单、测定数据准确度高、重复性好、抗干扰能力强的特点，并且适用于各种类型的全自动生化分析仪。技术方案是：补体4检测试剂，包括：a、一种使样品中C3抗原位点充分暴露、从而有利于与抗C3抗体试剂充分结合的C3反应剂，b、一种与人血清中的C3抗原有高度特异反应性的抗C3抗体试剂，c、一种用来与样品比较、进行结果计算的液体血清型恒定值校准剂，包括的成分及所占重量百分比为：防腐剂0.01-1、稳定剂0.1-1、防霉剂0.05-0.1和适量C3抗原，其余是20-100mmol/L缓冲剂。</p>	聚氧乙烯月桂醚	5 %
	NaCl	10 %
	PEG-6000	4.5 %
	广谱杀菌剂	0.1 %
	溴化己二甲胺	0.3 %
	乙二胺四乙酸二钠	0.05 %