

# 补体长期保藏的简便方法

黄秀琴

王仪梅

杨颐康

(华东师范大学生物系,上海)

**摘要** 从冷冻干燥、加保护剂着手,摸索出了保藏补体的方法:冷冻干燥后放置于普通冰箱其效价至少在二年之内一直保持不降;加改良的 Richardson 溶液或醋酸钠溶液也可保存三周。冷冻干燥后的补体能在普通冰箱中保存较长时间,为补体商品化提供了可靠保证。

**关键词** 补体;补体结合试验;冷冻干燥

补体是存在于正常人或动物血清中具有酶活性的一组球蛋白。是机体免疫反应和免疫病理反应的重要介质。早在 1901 年, Bordet 用霍乱弧菌(*Vibrio cholerae*)与其相应的免疫血清和补体起反应,提出了补体结合试验(complement fixation test),这是一个很重要的免疫学诊断方法,可用来鉴别梅毒等多种疾病<sup>[1,2]</sup>。近年来,人们又用微量补体结合(microcomplement fixation)的定量技术来研究很低浓度的可溶性抗原(抗原量每毫升 20—100ng)和抗体(抗体量每毫升 6—16ng)反应,这种技术提供了一个极为敏感和经济的方法来测定各个有关抗原蛋白之间的差别,对诊断细菌的分类有重要意义。但由于补体是一种很不稳定的物质,长期来国内又无较好的保藏补体的方法,一般只能用豚鼠的新鲜血清作为补体的来源,临时制备。我们从冷冻干燥、加保护剂等方面着手,初步摸索出了长期而又简便的补体保藏方法,并提出了补体成为商品的可靠制备法。

## 材 料 和 方 法

### (一) 材料

1. 绵羊红细胞(购于上海卫生防疫站)。保存于 2—10℃ 冰箱中,临用时配制成 2% 左右的悬液(以  $\lambda = 541$  时 OD 值在 0.50—0.55 为准),一般只保存二星期。

2. 溶血素(购于上海生物制品所)。效价为 1:4000。

3. isosetris 溶液。用 NaCl (0.82%)—Tris (9.8mM)、0.5mM MgSO<sub>4</sub>、0.15mM CaCl<sub>2</sub>、0.1% 牛血清白蛋白配制成 pH 为 7.45 的缓冲液,保存于 2—10℃ 冰箱中。

### 4. 保护剂

①改良的 Richardson 溶液<sup>[3]</sup>。用硼酸、硼砂、山梨醇和饱和的 NaCl 溶液配制而成。

②醋酸钠溶液<sup>[3]</sup>。用 12% 醋酸钠和 4% 硼酸配制而成。

### ③脱脂牛奶。

④40%甘油<sup>[4]</sup>。

5. 补体。取数只豚鼠, 抽心脏血使其流入离心管(离心管应置冰浴中), 以 3000r/min 离心 10 分钟, 取上清液, 即为补体。

## (二) 方法

1. 取一部分补体直接置于 0℃ 冰箱中保存。在另一部分补体中, 分别加入以上各种保护剂, 然后置于 0℃ 保存。

2. 从以上各补体中分别再取出部分装于若干支牛奶管中(每管装 0.2ml, 未加保护剂的装 0.1ml), 立即置于 -35℃ 下真空冷冻干燥, 封口后再将分装各种补体的牛奶管分别置于 0℃ 下保存, 以便定期测定效价。

3. 稀释溶血素、制备绵羊红细胞悬液、致敏红细胞(取等量的绵羊血红细胞悬液和稀释的最适工作浓度溶血素, 混合后置于 37℃ 水浴中保温 10 分钟, 然后以 1:10 稀释)。

4. 用 isosatis 溶液先将待测补体稀释为 1:30 的浓度, 然后将 1/30 补体再作一系列稀释, 使其最后的补体浓度为 1/600、1/300、1/200、1/150、1/120、1/100、1/86、1/75、1/67、1/60……再在每管中加入致敏绵羊红细胞 1ml (稀释补体和加致敏羊红细胞时试管都应置于冰浴中), 最后放于 37℃ 水浴中观察其溶血现象, 记录各试管的溶血时间, 30 分钟后确定各样品的补体效价。

## 结果和讨论

### (一) 冷冻干燥保藏

将分别加入改良 Richardson 溶液、醋酸钠溶液、脱脂牛奶的冷冻干燥补体和未加保护剂的冷冻干燥补体置于 0℃ 下保存二年, 期间每月测定一次效价, 结果都为 300 单位/ml。说明无论是加保护剂还是未加保护剂, 在 0℃ 保藏的冷冻干燥补体效价至少可保持二年不降, 因此冷冻干燥是保藏补体的最佳途径。据文献报道<sup>[1]</sup>, 脱水能使补体对热的抵抗性增大, 这与一般蛋白质的抗热性转变相一致, 故补体经冷冻干燥后可保存很长时期。这就为补体成为商品提供了可靠保证, 补体一旦成为商品, 就具有很

高的经济价值和使用价值。此外, 冷冻干燥分装补体的容器, 可用安瓿瓶取代牛奶管, 使制备方便, 成本降低。

### (二) 加保护剂保藏

加入改良 Richardson 溶液、醋酸钠溶液的未经干燥补体置于 0℃ 也可保藏一段时间, 但三周后其效价已有下降, 而加脱脂牛奶未经干燥的补体结果不理想, 加 40% 甘油未经干燥的补体其效价反而低于不加保护剂的补体, 见表 1。说明补体加保护剂未经干燥置于普通冰箱中保藏, 是一种短时间内保藏补体的方法。据文献报道<sup>[1]</sup>, 高渗盐类溶液的本质在于抵抗保存期间胶体结构可能发生的改变, 而补体机能即与此种结构有关, 这可能就是加改良的 Richardson 溶液和醋酸钠溶液的补体能保藏几周的原因, 因为这两种溶液中具饱和的氯化钠溶液。

表 1 未经干燥加保护剂补体在 0℃ 下保藏的补体效价

补体 效价 (单位/ml) 保存期(周)	未加保 护剂	加改良 Richa- rdson 溶液	加醋酸 钠溶液	加脱脂 牛奶	加40% 甘油
0	300	300	300	300	300
1	150	300	300	200	<75
3	50	300	300	120	
6		200	200	<75	
10		200	200		
15		200	120		
22		120	120		

### 参 考 文 献

- [1] N.A. 基里别尔著, 王玉民等译: 《免疫学基础》, 人民卫生出版社, 1965。
- [2] 高天祥、韩世杰: 《临床免疫学与实验技术》, 山东科学技术出版社, 1984。
- [3] Cruickshank, R.: Mackie and McCartneys Handbook of Bacteriology, 10 th ed., Edinburgh, p. 337-338, 1960.
- [4] Weir, D.M.: Handbook of Experimental Immunology. Oxford, Blackwell Scientific Publications, p.5A. 1, 1978.