



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 105954267 A

(43)申请公布日 2016.09.21

(21)申请号 201610249004.2

(22)申请日 2016.04.20

(71)申请人 北京中航赛维生物科技有限公司  
地址 101111 北京市大兴区经济技术开发区经海二路29号院8号楼

(72)发明人 不公告发明人

(74)专利代理机构 北京中海智圣知识产权代理有限公司 11282

代理人 杨树芬

(51) Int. Cl.

G01N 21/76(2006.01)

G01N 33/532(2006.01)

G01N 33/535(2006.01)

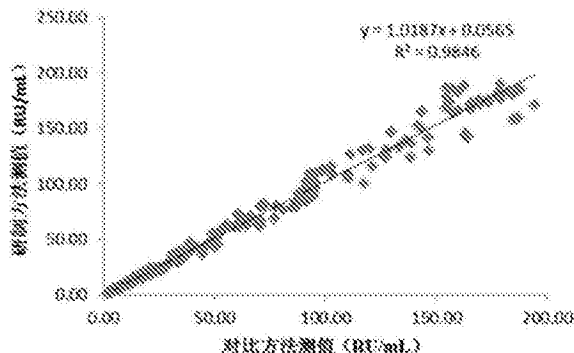
权利要求书3页 说明书13页 附图2页

(54)发明名称

一种抗组蛋白抗体IgG的磁微粒化学发光定量测定试剂盒及制备和检测方法

(57)摘要

本发明公开一种抗组蛋白抗体IgG的磁微粒化学发光定量测定试剂盒,该试剂盒包括:抗组蛋白抗体IgG校准品;抗组蛋白抗体IgG质控品;含生物素标记的组蛋白抗原和牛血清白蛋白的Tris缓冲液;含碱性磷酸酶标记的羊抗人多克隆抗体和牛血清白蛋白的Tris缓冲液;含有链霉亲和素标记的磁微粒和牛血清白蛋白的Tris缓冲液;清洗液。该试剂盒的检测方法在传统的膜条免疫法和酶联免疫吸附法的基础上,将灵敏度和线性范围再提高3-5个数量级,实现真正意义上的定量检测,反应迅速,结果可靠,并能配合全自动化学发光免疫分析仪实现全自动使用,对于临床诊断具有无可替代的重要价值。



1. 一种抗组蛋白抗体IgG的磁微粒化学发光定量测定试剂盒,其特征在于,所述试剂盒包括:

(1)抗组蛋白抗体IgG校准品,含抗组蛋白抗体IgG和牛血清白蛋白的Tris缓冲液,所述抗组蛋白抗体IgG校准品包含6个水平的液体校准品,所述6个水平的液体校准品中抗组蛋白抗体IgG的浓度分别为0,5,20,50,100,200RU/mL;

(2)抗组蛋白抗体IgG质控品,含抗组蛋白抗体IgG和牛血清白蛋白的Tris缓冲液,所述抗组蛋白抗体IgG质控品包含2个水平的液体质控品,所述2个水平的液体质控品中抗组蛋白抗体IgG的靶值浓度范围分别为 $(20 \pm 4)$ RU/mL和 $(100 \pm 20)$ RU/mL;

(3)试剂1号,含生物素标记的组蛋白抗原和牛血清白蛋白的Tris缓冲液;

(4)试剂2号,含碱性磷酸酶标记的羊抗人多克隆抗体和牛血清白蛋白的Tris缓冲液;

(5)磁分离试剂,含有链霉亲和素标记的磁微粒和牛血清白蛋白的Tris缓冲液;

(6)清洗液;

所述试剂盒中试剂1号,试剂2号和磁分离试剂的含量比为1:3:1,所述含量比为体积比。

2. 根据权利要求1所述的试剂盒,其特征在于:所述磁微粒的材质为 $Fe_2O_3$ ;所述磁微粒表面包被有羧基基团,包被物中羧基基团含量大于20wt%,所述磁微粒的大小为1-3 $\mu$ m。

3. 一种制备如权利要求1-2任一项所述试剂盒的方法,其包括如下步骤:

(1)配制抗组蛋白抗体IgG校准品:

步骤1)配制抗组蛋白抗体IgG校准品稀释液:

将纯化水、Tris、氯化钠和ProcIn300加入容器中,充分搅拌至完全溶解,Tris浓度为1wt%,氯化钠浓度为1wt%,ProcIn300浓度为0.2v%;用4M的HCL将溶液的pH值调为7.0-7.5;将牛血清白蛋白加入容器中,充分搅拌至完全溶解,牛血清白蛋白的浓度为4wt%;再用4M的HCL将溶液的pH值调为7.0-7.5;用孔径为0.2 $\mu$ m的滤器过滤,得抗组蛋白抗体IgG校准品稀释液,2-8 $^{\circ}$ C保存待用;

步骤2)配制抗组蛋白抗体IgG校准品:

将抗组蛋白抗体IgG用抗组蛋白抗体IgG校准品稀释液稀释至各浓度点为0,5,20,50,100,200RU/mL;

(2)配制抗组蛋白抗体IgG质控品:

将抗组蛋白抗体IgG用上述抗组蛋白抗体IgG校准品稀释液稀释至各浓度点为20,100RU/mL;

(3)配制试剂1号:

步骤1)配制试剂1号稀释液:

将纯化水、Tris、氯化钠和ProcIn300加入容器中,充分搅拌至完全溶解,Tris的浓度为1wt%,氯化钠浓度为0.5wt%,ProcIn300的浓度为0.2v%;将牛血清白蛋白加入容器中,充分搅拌至完全溶解,牛血清白蛋白的浓度为0.5wt%;用4M的HCL将溶液的pH值调为7.0-7.5;用孔径为0.2 $\mu$ m的滤器过滤,得试剂1号稀释液,2-8 $^{\circ}$ C保存待用;

步骤2)配制试剂1号:

将组蛋白抗原用纯化水溶解,2-8 $^{\circ}$ C条件下用浓度为0.2M pH为9.0的碳酸盐缓冲液透析2h,然后浓缩至浓度为2-4mg/mL的抗原溶液,用浓度为0.2M, pH为8.5-9的碳酸盐缓冲液

配制浓度为0.5-1.0mg/ml的生物素溶液;按照组蛋白抗原与生物素质量比为10:1的比例在组蛋白抗原溶液中加入生物素溶液,混合均匀,室温静置12-18h,反应生成组蛋白抗原-生物素连接物;将含有组蛋白抗原-生物素连接物的反应液在2-8℃条件下用浓度为0.2M,pH为9.0的碳酸盐缓冲液透析2天,期间进行4次换液,从而除去未反应的生物素,得到含有组蛋白抗原-生物素连接物的溶液;用试剂1号稀释液将含有组蛋白抗原-生物素连接物的溶液稀释到0.1-0.3μg/mL,制得试剂1号;

(4)配制试剂2号:

步骤1)配制试剂2号稀释液:

将纯化水、4-羟乙基哌嗪乙磺酸、氯化钠、牛血清白蛋白、ZnCl<sub>2</sub>和ProcIn300加入容器中,充分搅拌至完全溶解,4-羟乙基哌嗪乙磺酸的浓度为0.6wt%,氯化钠浓度为0.8wt%,牛血清白蛋白的浓度为0.5wt%,ZnCl<sub>2</sub>的浓度为0.1wt%,ProcIn300的浓度为0.2v%,MgCl<sub>2</sub>的浓度为0.1%;用4M的HCL将溶液的pH值调为7.5-8.0;用孔径为0.2μm的滤器过滤,得试剂2号稀释液,2-8℃保存待用;

步骤2)配制试剂2号:

将1mg羊抗人多克隆抗体加入到2-4μL浓度为10mg/mL的2-亚氨基硫烷盐酸盐溶液中,室温静置20min,再加入0.1mol/L的甘氨酸溶液10μL,室温静置5min,用G-25凝胶柱除盐,收集活化后的羊抗人多克隆抗体,2-8℃保存备用;将1.5mg的碱性磷酸酶加入到10-20μL的浓度为5mg/mL的4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-羧酸琥珀酰亚胺酯溶液中,室温静置30min,用G-25凝胶柱除盐,收集活化后的碱性磷酸酶,2-8℃保存备用;将活化的羊抗人多克隆抗体与活化的碱性磷酸酶混合,2-8℃条件下静置12-24h,用Superdex200凝胶纯化柱纯化偶联物,获得羊抗人多克隆抗体-碱性磷酸酶连接物浓溶液,2-8℃保存备用;将羊抗人多克隆抗体-碱性磷酸酶连接物浓溶液用试剂2号稀释液稀释到0.02-0.1μg/mL,制得试剂2号;

(5)配制磁分离试剂:

步骤1)配制磁微粒缓冲液:

将纯化水、Tris和氯化钠加入容器中,充分搅拌至完全溶解,Tris的浓度为1wt%,氯化钠的浓度为0.8wt%;再将牛血清白蛋白、新生牛血清和ProcIn300加入容器中,充分搅拌至完全溶解,牛血清白蛋白的浓度为0.5wt%,新生牛血清浓度为5v%,ProcIn300浓度为0.2v%;用4M的HCL将溶液的pH值调为7.9-8.1;用孔径为0.2μm的滤器过滤,得磁微粒缓冲液,2-8℃保存待用;

步骤2)配制磁分离试剂:

取100mg磁微粒,使用磁力架吸附,静止2min后吸去上清,向磁微粒中加入浓度为0.025mol/L,pH为4.5-5的2-(N-吗啡啉)乙磺酸缓冲液10mL,充分混匀;再加入0.5-1mL新配制的浓度均为10mg/mL的1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺和N-羟基琥珀酰亚胺水溶液,室温混匀30-60min,得磁珠混悬体系;使用2-(N-吗啡啉)乙磺酸缓冲液配制浓度为5mg/mL的链霉亲和素溶液,然后向磁珠混悬体系中直接加入上述浓度的0.8-1.6mL的链霉亲和素,4℃条件下混悬16-20h;再使用磁力架吸附,静止2min后吸去上清,向磁微粒中加入10mL浓度为1M,pH为8.5的乙醇胺溶液,室温反应1-2h,再使用磁力架吸附,静止2min后吸去上清,向磁微粒中加入适量磁微粒缓冲液稀释使终浓度为0.5mg/mL,制得磁分离试剂;

(6)配制清洗液:

将纯化水、Tris和氯化钠加入容器中,充分搅拌至完全溶解,Tris的浓度为1wt%,氯化钠的浓度为0.8wt%;再将Tween-20和Triton100加入容器中,充分搅拌至完全混匀,Tween-20的浓度为0.5wt%,Triton100的浓度为0.5wt%;用4M的HCL将溶液的pH值调为7.5-8.0,用孔径为0.2 $\mu$ m的滤器过滤,得清洗液,2-8 $^{\circ}$ C保存。

4.使用如权利要求1所述的试剂盒检测抗组蛋白抗体IgG含量的检测方法,其特征在于,该方法包括如下步骤:

(1)将抗组蛋白抗体IgG校准品放到全自动化学发光免疫分析仪测试位置,得到由全自动化学发光免疫分析仪输出的拟合曲线;

(2)将抗组蛋白抗体IgG质控品放到上述分析仪测试位置,得到由全自动化学发光免疫分析仪输出的所述质控品的测试发光值和通过步骤(1)得到的拟合曲线拟合得到抗组蛋白抗体IgG质控品的浓度值;

(3)将待测样本放到上述分析仪测试位置,由所述分析仪自动按1:20将样本稀释,得到由全自动化学发光免疫分析仪输出的待测样本的浓度值。

5.根据权利要求4所述的检测方法,其特征在于,该方法具体包括如下步骤:

(1)加20 $\mu$ L抗组蛋白抗体IgG校准品或质控品或1:20稀释后的待测标本至检测管中;

(2)加50 $\mu$ L的试剂1号至步骤(1)所述检测管中,混匀后,37 $\pm$ 0.5 $^{\circ}$ C温育10min;

(3)加50 $\mu$ L的磁分离试剂至步骤(2)所述检测管中,混匀后,37 $\pm$ 0.5 $^{\circ}$ C温育5min,进行磁分离,去上清;

(4)加300 $\mu$ L的清洗液至步骤(3)所述检测管中,混匀,进行磁分离,去上清;

(5)重复步骤(4)两遍;

(6)加150 $\mu$ L试剂2号至步骤(5)所述检测管中,混匀后,37 $\pm$ 0.5 $^{\circ}$ C温育10min,进行磁分离,去上清;

(7)加300 $\mu$ L的清洗液至步骤(6)所述检测管中,混匀,进行磁分离,去上清;

(8)重复步骤(7)两遍;

(9)加200 $\mu$ L的化学发光底物至步(8)所述检测管中,混匀,检测发光强度;

所述步骤(1)、步骤(2)和步骤(3)均包括全自动化学发光免疫分析仪的全自动检测步骤。

## 一种抗组蛋白抗体IgG的磁微粒化学发光定量测定试剂盒及制备和检测方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及生物检测技术领域,尤其涉及一种抗组蛋白抗体IgG的磁微粒化学发光定量测定试剂盒及制备和检测方法。

### 背景技术

[0002] 组蛋白是一种碱性核蛋白,由5个亚单位(H1、H2A、H2B、H3、H4)组成。抗组蛋白抗体可以在多种结缔组织病中出现,不具有诊断特异性,但在系统性红斑狼疮和药物性红斑狼疮病人中阳性率较高。

[0003] 抗组蛋白抗体与各种自身免疫性疾病相关,在全身性红斑狼疮(SLE)患者,抗组蛋白抗体检出率为30%-70%,在无并发症的类风湿性关节炎患者阳性率15%-50%,青年型类风湿性关节炎患者阳性率为60%,药物性狼疮患者抗组蛋白的检出率很高(>95%)。这些SLE病人临床上伴有肾炎者多见。

[0004] 系统性红斑狼疮(SLE)是一种系统性的自身免疫病。其发病机理与自身免疫有关,血清学的特点是具有多种自身抗体。本病可发生在任何年龄,最多见为育龄妇女,临床表现大多发病急缓不一,可为发热、皮疹、秃头、胸膜炎、心包炎、肾炎、溶血性贫血、白细胞减少、血小板减少和中枢神经系统(CNS)受累等,因此常被误诊或漏诊。当今免疫学的飞速发展也极大地促进了临床医学的发展尤其是风湿病学的发展。随着免疫学的发展,自身抗体的检测已成为诊断SLE的重要手段。

[0005] 目前临床上抗组蛋白抗体IgG的检测有膜条免疫法和酶联免疫吸附法。膜条免疫法应用的是膜条显色技术,其特点为固定几个项目在同一膜条测定,一般通过手工或者半自动膜条仪进行实验操作,最终通过肉眼进行定性判定,该技术灵敏度低,反应时间长,检测项目只能固定搭配组合,灵活性差。酶联免疫吸附法的灵敏度在膜条免疫法基础上有所提升,但仍然较低,并且线性范围窄,重复性差,反应时间长,仍然不能很好满足临床的应用。

[0006] 目前,使用磁微粒化学发光分析法在抗组蛋白抗体IgG免疫分析产品的应用仍未见。

### 发明内容

[0007] 本发明的一个目的在于提供一种抗组蛋白抗体IgG的磁微粒化学发光定量测定试剂盒,本发明提供的试剂盒将化学发光分析技术与磁微粒分离技术相结合,采用生物素和碱性磷酸酶(ALP)分别标记抗原和抗体,以直径1-3 $\mu$ m的包被链霉亲和素的超顺磁微粒作为分离试剂。ALP催化底物发光后,通过仪器测量发光强度计算出待测物浓度。该检测方法在传统的膜条免疫法和酶联免疫吸附法的基础上,将灵敏度和线性范围再提高3-5个数量级,实现真正意义的定量检测,反应迅速,结果可靠,并能配合全自动化学发光免疫分析仪实现全自动使用,对于临床诊断具有无可替代的重要价值。

[0008] 本发明的另一个目的在于提供一种上述试剂盒的制备方法及使用上述试剂盒的检测方法。

[0009] 为达到上述目的,本发明采用下述技术方案:

[0010] 一种抗组蛋白抗体IgG的磁微粒化学发光定量测定试剂盒,所述试剂盒包括:

[0011] (1)抗组蛋白抗体IgG校准品,含抗组蛋白抗体IgG和牛血清白蛋白的Tris缓冲液,所述抗组蛋白抗体IgG校准品包含6个水平的液体校准品,所述6个水平的液体校准品中抗组蛋白抗体IgG的浓度分别为0,5,20,50,100,200RU/mL;

[0012] (2)抗组蛋白抗体IgG质控品,含抗组蛋白抗体IgG和牛血清白蛋白的Tris缓冲液,所述抗组蛋白抗体IgG质控品包含2个水平的液体质控品,所述2个水平的液体质控品中抗组蛋白抗体IgG的靶值浓度范围分别为 $(20 \pm 4)$ RU/mL和 $(100 \pm 20)$ RU/mL;

[0013] (3)试剂1号,含生物素标记的组蛋白抗原和牛血清白蛋白的Tris缓冲液;

[0014] (4)试剂2号,含碱性磷酸酶标记的羊抗人多克隆抗体和牛血清白蛋白的Tris缓冲液;

[0015] (5)磁分离试剂,含有链霉亲和素标记的磁微粒和牛血清白蛋白的Tris缓冲液;

[0016] (6)清洗液;

[0017] 所述试剂盒中试剂1号,试剂2号和磁分离试剂的含量比为1:3:1,所述含量比为体积比。

[0018] 进一步的,所述磁微粒的材质为 $Fe_2O_3$ ;所述磁微粒表面包被有羧基基团,包被物中羧基基团含量大于20wt%,所述磁微粒的大小为1-3 $\mu$ m。

[0019] 一种制备所述抗组蛋白抗体IgG的磁微粒化学发光定量测定试剂盒的方法,该方法包括如下步骤:

[0020] (1)配制抗组蛋白抗体IgG校准品:

[0021] 步骤1)配制抗组蛋白抗体IgG校准品稀释液:

[0022] 将纯化水、Tris、氯化钠和ProcIn300加入容器中,充分搅拌至完全溶解,Tris浓度为1wt%,氯化钠浓度为1wt%,ProcIn300浓度为0.2v%;用4M的HCL将溶液的pH值调为7.0-7.5;将牛血清白蛋白加入容器中,充分搅拌至完全溶解,牛血清白蛋白的浓度为4wt%;再用4M的HCL将溶液的pH值调为7.0-7.5;用孔径为0.2 $\mu$ m的滤器过滤,得抗组蛋白抗体IgG校准品稀释液,2-8 $^{\circ}$ C保存待用;

[0023] 步骤2)配制抗组蛋白抗体IgG校准品:

[0024] 将抗组蛋白抗体IgG用抗组蛋白抗体IgG校准品稀释液稀释至各浓度点为0,5,20,50,100,200RU/mL;

[0025] (2)配制抗组蛋白抗体IgG质控品:

[0026] 将抗组蛋白抗体IgG用上述抗组蛋白抗体IgG校准品稀释液稀释至各浓度点为20,100RU/mL;

[0027] (3)配制试剂1号:

[0028] 步骤1)配制试剂1号稀释液:

[0029] 将纯化水、Tris、氯化钠和ProcIn300加入容器中,充分搅拌至完全溶解,Tris的浓度为1wt%,氯化钠浓度为0.5wt%,ProcIn300的浓度为0.2v%;将牛血清白蛋白加入容器中,充分搅拌至完全溶解,牛血清白蛋白的浓度为0.5wt%;用4M的HCL将溶液的pH值调为

7.0-7.5;用孔径为0.2 $\mu$ m的滤器过滤,得试剂1号稀释液,2-8 $^{\circ}$ C保存待用;

[0030] 步骤2)配制试剂1号:

[0031] 将组蛋白抗原用纯化水溶解,2-8 $^{\circ}$ C条件下用浓度为0.2M,pH为9.0的碳酸盐缓冲液透析2h,然后浓缩至浓度为2-4mg/mL的抗原溶液,用浓度为0.2M,pH为8.5-9的碳酸盐缓冲液配制浓度为0.5-1.0mg/mL的生物素溶液;按照组蛋白抗原与生物素质量比为10:1的比例在组蛋白抗原溶液中加入生物素溶液,混合均匀,室温静置12-18h,反应生成组蛋白抗原-生物素连接物;将含有组蛋白抗原-生物素连接物的反应液在2-8 $^{\circ}$ C条件下用浓度为0.2M,pH为9.0的碳酸盐缓冲液透析2天,期间进行4次换液,从而除去未反应的生物素,得到含有组蛋白抗原-生物素连接物的溶液;用试剂1号稀释液将含有组蛋白抗原-生物素连接物的溶液稀释到0.1-0.3 $\mu$ g/mL,制得试剂1号;

[0032] 本步骤配制的试剂1号可降低实验成本,而且能有效分离游离生物素和组蛋白抗原-生物素连接物,得到的组蛋白抗原-生物素连接物较纯,减少了后续的非特异性反应;

[0033] (4)配制试剂2号:

[0034] 步骤1)配制试剂2号稀释液:

[0035] 将纯化水、4-羟乙基哌嗪乙磺酸、氯化钠、牛血清白蛋白、ZnCl<sub>2</sub>和ProcIn300加入容器中,充分搅拌至完全溶解,4-羟乙基哌嗪乙磺酸的浓度为0.6wt%,氯化钠浓度为0.8wt%,牛血清白蛋白的浓度为0.5wt%,ZnCl<sub>2</sub>的浓度为0.1wt%,ProcIn300的浓度为0.2v%,MgCl<sub>2</sub>的浓度为0.1%;用4M的HCL将溶液的pH值调为7.5-8.0;用孔径为0.2 $\mu$ m的滤器过滤,得试剂2号稀释液,2-8 $^{\circ}$ C保存待用;

[0036] 步骤2)配制试剂2号:

[0037] 将1mg羊抗人多克隆抗体加入到2-4 $\mu$ L浓度为10mg/mL的2-亚氨基硫烷盐酸盐溶液中,室温静置20min,再加入0.1mol/L的甘氨酸溶液10 $\mu$ L,室温静置5min,用G-25凝胶柱除盐,收集活化后的羊抗人多克隆抗体,2-8 $^{\circ}$ C保存备用;将1.5mg的碱性磷酸酶加入到10-20 $\mu$ L的浓度为5mg/mL的4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-羧酸琥珀酰亚胺酯溶液中,室温静置30min,用G-25凝胶柱除盐,收集活化后的碱性磷酸酶,2-8 $^{\circ}$ C保存备用;将活化的羊抗人多克隆抗体与活化的碱性磷酸酶混合,2-8 $^{\circ}$ C条件下静置12-24h,用Supperdex200凝胶纯化柱纯化偶联物,获得羊抗人多克隆抗体-碱性磷酸酶连接物浓溶液,2-8 $^{\circ}$ C保存备用;将羊抗人多克隆抗体-碱性磷酸酶连接物浓溶液用试剂2号稀释液稀释到0.02-0.1 $\mu$ g/mL,即得试剂2号;

[0038] (5)配制磁分离试剂:

[0039] 步骤1)配制磁微粒缓冲液:

[0040] 将纯化水、Tris和氯化钠加入容器中,充分搅拌至完全溶解,Tris的浓度为1wt%,氯化钠的浓度为0.8wt%;再将牛血清白蛋白、新生牛血清和ProcIn300加入容器中,充分搅拌至完全溶解,牛血清白蛋白的浓度为0.5wt%,新生牛血清浓度为5v%,ProcIn300浓度为0.2v%;用4M的HCL将溶液的pH值调为7.9-8.1;用孔径为0.2 $\mu$ m的滤器过滤,得磁微粒缓冲液,2-8 $^{\circ}$ C保存待用;

[0041] 步骤2)配制磁分离试剂:

[0042] 取100mg磁微粒,使用磁力架吸附,静止2min后吸去上清,向磁微粒中加入浓度为0.025mol/L,pH为4.5-5的2-(N-吗啡啉)乙磺酸缓冲液10mL,充分混匀;再加入0.5-1mL新配

制的浓度均为10mg/mL的1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺和N-羟基琥珀酰亚胺水溶液,室温混匀30-60min,得磁珠混悬体系;使用2-(N-吗啡啉)乙磺酸缓冲液配制浓度为5mg/mL的链霉亲和素溶液,然后向磁珠混悬体系中直接加入4-8mg的链霉亲和素,4℃条件下混悬16-20h;再使用磁力架吸附,静止2min后吸去上清,向磁微粒中加入10mL浓度为1M,pH为8.5的乙醇胺溶液,室温反应1-2h,再使用磁力架吸附,静止2min后吸去上清,向磁微粒中加入适量磁微粒缓冲液稀释使终浓度为0.5mg/mL,制得磁分离试剂;

[0043] 本步骤中,加入N-羟基琥珀酰亚胺能对偶联剂1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺起到稳定作用;加入链霉亲和素后在4度条件下混悬,能更好的保留蛋白质活性,同时减少室温变化对偶联效果的影响,使批次之间偶联结果更加稳定;加入乙醇胺,能使乙醇胺分子中的氨基与磁珠活化后未结合蛋白的活性位点反应,起到终止反应和封闭作用,能产生更低的本底值。

[0044] (6)配制清洗液:

[0045] 将纯化水、Tris和氯化钠加入容器中,充分搅拌至完全溶解,Tris的浓度为1wt%,氯化钠的浓度为0.8wt%;再将Tween-20和Triton100加入容器中,充分搅拌至完全混匀,Tween-20的浓度为0.5wt%,Triton100的浓度为0.5wt%;用4M的HCL将溶液的pH值调为7.5-8.0,用0.2 $\mu$ m滤器过滤,得清洗液,2-8℃保存。

[0046] 抗组蛋白抗体IgG的磁微粒化学发光定量测定试剂盒检测抗组蛋白抗体IgG的检测方法,该方法包括如下步骤:

[0047] (1)将抗组蛋白抗体IgG校准品放到全自动化学发光免疫分析仪测试位置,得到由全自动化学发光免疫分析仪输出的拟合曲线;

[0048] (2)将抗组蛋白抗体IgG质控品放到上述分析仪测试位置,得到由全自动化学发光免疫分析仪输出的所述质控品的测试发光值和通过步骤(1)得到的拟合曲线拟合得到抗组蛋白抗体IgG质控品的浓度值;

[0049] (3)将待测样本放到上述分析仪测试位置,由所述分析仪自动按1:20将样本稀释,得到由全自动化学发光免疫分析仪输出的待测样本的浓度值。

[0050] 进一步的,该方法具体包括如下步骤:

[0051] (1)加20 $\mu$ L抗组蛋白抗体IgG校准品或质控品或1:20稀释后的待测标本至检测管中;

[0052] (2)加50 $\mu$ L的试剂1号至步骤(1)所述检测管中,混匀后,37 $\pm$ 0.5℃温育10min;

[0053] (3)加50 $\mu$ L的磁分离试剂至步骤(2)所述检测管中,混匀后,37 $\pm$ 0.5℃温育5min,进行磁分离,去上清;

[0054] (4)加300 $\mu$ L的清洗液至步骤(3)所述检测管中,混匀,进行磁分离,去上清;

[0055] (5)重复步骤(4)两遍;

[0056] (6)加150 $\mu$ L试剂2号至步骤(5)所述检测管中,混匀后,37 $\pm$ 0.5℃温育10min,进行磁分离,去上清;

[0057] (7)加300 $\mu$ L的清洗液至步骤(6)所述检测管中,混匀,进行磁分离,去上清;

[0058] (8)重复步骤(7)两遍;

[0059] (9)加200 $\mu$ L的化学发光底物至步(8)所述检测管中,混匀,检测发光强度;

[0060] 所述步骤(1)、步骤(2)和步骤(3)均包括全自动化学发光免疫分析仪的全自动检

测步骤。

[0061] 本发明的有益效果如下：

[0062] 本发明公开了一种测定抗组蛋白抗体IgG的新技术,使得反应过程更加快速可靠,提高了灵敏度和线性范围,实现真正意义的定量测定,并能搭配全自动化学发光免疫分析仪实现全自动的使用,提高工作效率;试剂盒中的校准品、生物素标记试剂、酶标记试剂、磁分离试剂和清洗液等均是该反应体系下的更优配方,给该试剂盒的使用效期及检测性能提供了有力保障。

### 附图说明

[0063] 图1为实施例7的试剂盒空白限评价中零浓度校准品与相邻校准品之间的浓度值与发光值结果进行两点回归拟合得出的一次方程;

[0064] 图2为对比例1制备的试剂盒空白限评价中零浓度校准品与相邻校准品之间的浓度值与发光值结果进行两点回归拟合得出的一次方程;

[0065] 图3为线性范围评价中样本浓度平均值和稀释比例用最小二乘法进行直线拟合方程;

[0066] 图4为本方法同其他方法的试剂盒临床样本测值相关性散点图。

### 具体实施方式

[0067] 为了更清楚地说明本发明,下面结合优选实施例和附图对本发明做进一步的说明。

[0068] 实施例1

[0069] 抗组蛋白抗体IgG校准品的制备:

[0070] 步骤1)配制抗组蛋白抗体IgG校准品稀释液:

[0071] 将800mI的纯化水、11.2g的Tris、8.6g氯化钠和2mI ProcIin300加入容器中,充分搅拌至完全溶解;用4M的HCL将溶液的pH值调为7.0-7.5;将40g牛血清白蛋白加入容器中,充分搅拌至完全溶解;再用4M的HCL将溶液的pH值调为7.0-7.5;用纯化水将溶液定容至1L,用0.2 $\mu$ m滤器过滤得抗组蛋白抗体IgG校准品稀释液,2-8 $^{\circ}$ C保存待用;

[0072] 步骤2)配制抗组蛋白抗体IgG校准品:

[0073] 将抗组蛋白抗体IgG用抗组蛋白抗体IgG校准品稀释液稀释至各浓度点为0,5,20,50,100,200RU/mL。

[0074] 实施例2

[0075] 抗组蛋白抗体IgG质控品的制备:

[0076] 将抗组蛋白抗体IgG用上述抗组蛋白抗体IgG校准品稀释液稀释至各浓度点为20,100RU/mL。

[0077] 实施例3

[0078] 试剂1号的制备:

[0079] 步骤1)配制试剂1号稀释液:

[0080] 将800mI纯化水、12.1g的Tris、5.8g氯化钠和2mI ProcIin300加入容器中,充分搅拌至完全溶解;将5g牛血清白蛋白加入容器中,充分搅拌至完全溶解;用4M的HCL将溶液的

pH值调为7.0-7.5;用纯化水将溶液定容至1L,用0.2 $\mu$ m滤器过滤得试剂1号稀释液,2-8 $^{\circ}$ C保存待用;

[0081] 步骤2)配制试剂1号:

[0082] 将组蛋白抗原用纯化水溶解,2-8 $^{\circ}$ C条件下用浓度为0.2M,pH为9.0的碳酸盐缓冲液透析2h,然后浓缩至浓度为2-4mg/mL的抗原溶液,用浓度为0.2M,pH为8.5-9的碳酸盐缓冲液配制浓度为0.5-1.0mg/mL的生物素溶液;按照组蛋白抗原与生物素质量比为10:1的比例在组蛋白抗原溶液中加入生物素溶液,混合均匀,室温静置12-18h,反应生成组蛋白抗原-生物素连接物;将含有组蛋白抗原-生物素连接物的反应液在2-8 $^{\circ}$ C条件下用浓度为0.2M,pH为9.0的碳酸盐缓冲液透析2天,期间进行4次换液,从而除去未反应的生物素,得到含有组蛋白抗原-生物素连接物的溶液;用试剂1号稀释液将含有组蛋白抗原-生物素连接物的溶液稀释到0.1-0.3 $\mu$ g/mL,制得试剂1号;

[0083] 实施例4

[0084] 试剂2号的制备:

[0085] 步骤1)配制试剂2号稀释液:

[0086] 将800mL纯化水、6.06g的4-羟乙基哌嗪乙磺酸、8.5g氯化钠、5g牛血清白蛋白、0.1gZnCl<sub>2</sub>、0.2mL ProcIn300和0.1g MgCl<sub>2</sub>加入容器中,充分搅拌至完全溶解;用4M的HCL将溶液的pH值调为7.5-8.0;用纯化水将溶液定容至1L,用0.2 $\mu$ m滤器过滤得试剂2号稀释液,2-8 $^{\circ}$ C保存待用;

[0087] 步骤2)配制试剂2号:

[0088] 将1mg羊抗人多克隆抗体加入到2-4 $\mu$ L浓度为10mg/mL的2-亚胺四氢噻吩溶液中,室温静置20min,再加入0.1mol/L的甘氨酸溶液10 $\mu$ L,室温静置5min,用G-25凝胶柱除盐,收集活化后的羊抗人多克隆抗体,2-8 $^{\circ}$ C保存备用;将1.5mg的碱性磷酸酶加入到10-20 $\mu$ L的浓度为5mg/mL的4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-羧酸琥珀酰亚胺酯溶液中,室温静置30min,用G-25凝胶柱除盐,收集活化后的碱性磷酸酶,2-8 $^{\circ}$ C保存备用;将活化的羊抗人多克隆抗体与活化的碱性磷酸酶混合,2-8 $^{\circ}$ C条件下静置12-24h,用Supperdex200凝胶纯化柱纯化偶联物,获得羊抗人多克隆抗体-碱性磷酸酶连接物浓溶液,2-8 $^{\circ}$ C保存备用;将羊抗人多克隆抗体-碱性磷酸酶连接物浓溶液用试剂2号稀释液稀释到0.02-0.1 $\mu$ g/mL,制得试剂2号。

[0089] 实施例5

[0090] 磁分离试剂的制备:

[0091] 步骤1)配制磁微粒缓冲液:

[0092] 将800mL纯化水、12.1g Tris和8.5g氯化钠加入容器中,充分搅拌至完全溶解;再将5g牛血清白蛋白、50mL新生牛血清和0.2mL ProcIn300加入容器中,充分搅拌至完全溶解;用4M的HCL将溶液的pH值调为7.9-8.1;用纯化水将溶液定容至1L,用0.2 $\mu$ m滤器过滤得磁微粒缓冲液,2-8 $^{\circ}$ C保存待用;

[0093] 步骤2)配制磁分离试剂:

[0094] 取100mg磁微粒,使用磁力架吸附,静止2min后吸去上清,向磁微粒中加入浓度为0.025mol/L,pH为4.5-5的2-(N-吗啡啉)乙磺酸缓冲液10mL,充分混匀;再加入0.5-1mL新配制的浓度均为10mg/mL的1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺和N-羟基琥珀酰亚胺水溶

液,室温混匀30-60min,得磁珠混悬体系;使磁微粒充分活化,使用2-(N-吗啡啉)乙磺酸缓冲液配制浓度为5mg/mL的链霉亲和素溶液,然后向磁珠混悬体系中直接加入4-8mg的链霉亲和素,4℃条件下混悬16-20h;再使用磁力架吸附,静止2min后吸去上清,向磁微粒中加入10mL浓度为1M,pH为8.5的乙醇胺溶液,室温反应1-2h,再使用磁力架吸附,静止2min后吸去上清,向磁微粒中加入适量磁微粒缓冲液稀释使终浓度为0.5mg/mL,制得磁分离试剂;

[0095] 实施例6

[0096] 清洗液的制备:

[0097] 将800mL纯化水、12.1g Tris和8.5g氯化钠加入容器中,充分搅拌至完全溶解;再将5g Tween-20和5g Triton100加入容器中,充分搅拌至完全混匀;用4M的HCL将溶液的pH值调为7.5-8.0用纯化水将溶液定容至1L,用0.2 $\mu$ m滤器过滤得清洗液,2-8℃保存。

[0098] 实施例7

[0099] 抗组蛋白抗体IgG的磁微粒化学发光定量测定试剂盒

[0100] 该试剂盒包括:

[0101] 按照实施例1方法制备的抗组蛋白抗体IgG校准品,每个水平的校准品用量为0.5mL;

[0102] 按照实施例2方法制备的抗组蛋白抗体IgG质控品,质控品用量为1mL;

[0103] 按照实施例3方法制备的试剂1号,试剂1号的用量为5mL;

[0104] 按照实施例4方法制备的试剂2号,试剂2号的用量为15mL;

[0105] 按照实施例5方法制备的磁分离试剂,磁分离试剂的用量为5mL;

[0106] 按照实施例6方法制备的清洗液,清洗液用量为1L。

[0107] 实施例8

[0108] 采用实施例7的试剂盒对抗组蛋白抗体IgG进行定量检测:

[0109] (1)加20 $\mu$ L抗组蛋白抗体IgG校准品或质控品或1:20稀释后的待测标本至检测管中;

[0110] (2)加50 $\mu$ L的试剂1号至步骤(1)所述检测管中,混匀后,37 $\pm$ 0.5℃温育10min;

[0111] (3)加50 $\mu$ L的磁分离试剂至步骤(2)所述检测管中,混匀后,37 $\pm$ 0.5℃温育5min,进行磁分离,去上清;

[0112] (4)加300 $\mu$ L的清洗液至步骤(3)所述检测管中,混匀,进行磁分离,去上清;

[0113] (5)重复步骤(4)两遍;

[0114] (6)加150 $\mu$ L试剂2号至步骤(5)所述检测管中,混匀后,37 $\pm$ 0.5℃温育10min,进行磁分离,去上清;

[0115] (7)加300 $\mu$ L的清洗液至步骤(6)所述检测管中,混匀,进行磁分离,去上清;

[0116] (8)重复步骤(7)两遍;

[0117] (9)加200 $\mu$ L的化学发光底物至步(8)所述检测管中,混匀,检测发光强度;

[0118] 对比例1

[0119] 与实施例7制备的试剂盒相同,不同的是试剂盒中的试剂1号和磁分离试剂。

[0120] 试剂1号的制备如下:

[0121] a. 配制试剂1号稀释液:

[0122] 将800mL纯化水、12.1g的Tris、5.8g氯化钠和2mL ProcIn300加入容器中,充分搅

拌至完全溶解;将5g牛血清白蛋白加入容器中,充分搅拌至完全溶解;用4M的HCL将溶液的pH值调为7.0-7.5;用纯化水将溶液定容至1L,用0.2μm滤器过滤得试剂1号稀释液,2-8℃保存待用;

[0123] b. 配制试剂1号:

[0124] 用浓度0.2M,pH为9的碳酸盐缓冲液配制0.5mg/ml的生物素溶液;按照组蛋白抗原与生物素质量比为10:1的比例在组蛋白抗原溶液中加入生物素溶液,混合均匀,室温静置18h,反应生成组蛋白抗原-生物素连接物;将含有组蛋白抗原-生物素连接物的反应液通过G-25凝胶柱进行分离,除去未反应的生物素,得到含有组蛋白抗原-生物素连接物的溶液;用试剂1号稀释液将含有组蛋白抗原-生物素连接物的溶液稀释到0.1-0.3μg/mL,制得试剂1号;

[0125] 磁分离试剂的制备如下:

[0126] a. 配制磁微粒缓冲液:

[0127] 将800mL纯化水、12.1g Tris和8.5g氯化钠加入容器中,充分搅拌至完全溶解;再将5g牛血清白蛋白、50mL新生牛血清和0.2mL ProcIn300加入容器中,充分搅拌至完全溶解;用4M的HCL将溶液的pH值调为7.9-8.1;用纯化水将溶液定容至1L,用0.2μm滤器过滤得磁微粒缓冲液,2-8℃保存待用;

[0128] b. 配制磁分离试剂:

[0129] 取100mg磁微粒,磁分离去上清,用浓度为0.025mol/L,pH为4.5-5的2-(N-吗啡啉)乙磺酸缓冲液10mL重悬;加入0.5-1mL新配制的浓度为10mg/mL的EDC水溶液,室温混悬30-60min;使磁珠充分活化,磁分离,去上清,用浓度为0.025mol/L,pH为4.5-5 2-(N-吗啡啉)乙磺酸缓冲液10mL重悬;加入4-8mg的链霉亲和素,室温混悬16-20h;再进行磁分离,去上清,用磁微粒缓冲液稀释重悬到0.5mg/mL,制得磁分离试剂。

[0130] 实施例9

[0131] 对实施例7和对比例1的试剂盒进行性能评价:

[0132] 1. 准确度评价

[0133] 用实施例7的试剂盒,将浓度约为200RU/mL(允许其浓度偏差为±20%)的抗组蛋白抗体IgG样品A加入到血清或其他相应基质的样品B中,所加入A的体积不超过总体积(A+B)的10%,根据公式(1)计算回收率R,本方法的回收率要求在85-115%范围内,数据参见表1,评价结果符合要求。

[0134] 
$$R = \frac{C \times (V_0 + V) - C_0 \times V_0}{V \times C_s} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (1)$$

[0135] R:回收率;

[0136] V:加入标准溶液的体积;

[0137] V<sub>0</sub>:人源样品的体积;

[0138] C:人源样品加入标准溶液后的检测浓度;

[0139] C<sub>0</sub>:人源样品的检测浓度;

[0140] C<sub>s</sub>:标准溶液的浓度。

[0141] 表1准确度评价

	样本 B 中加入 A 液后的检测发光值	C--样本 B 中加入 A 液后的检测浓度 (RU/mL)	样本 B 的发光值	C <sub>0</sub> --样本 B 的浓度值	Cs--样本 A 液的浓度值 (RU/mL)
[0142]					
	测试 1	479878	18.98	17536	0.00
	测试 2	503829	19.98	16724	0.00
	测试 3	520085	20.66	16109	0.00
[0143]	平均值	/	19.87	/	0.00
	回收率 R	99.36%			

## [0144] 2. 空白限评价

[0145] 用实施例7和对比例1的试剂盒的零浓度校准品作为样本进行检测,重复测定20次,得出20次测量结果的RLU值(相对发光值),计算其平均值(M)和标准差(SD),得出M+2SD所对应的RLU值,根据零浓度校准品与相邻校准品之间的浓度-RLU值结果进行两点回归拟合得出一次方程,将M+2SD所对应的RLU值带入上述方程中,求出对应的浓度值,即为空白限。本方法的空白限要求不大于1RU/mL,数据参见表2,A、B点连点拟合曲线及拟合方程见图1,对比例1制备的试剂盒测得的空白限数据见表2-1,A、B点连点拟合曲线及拟合方程见图2,由数据可见,实施例7与对比例1相比,得到的本底值更低,从而得到的空白限更低,代表试剂盒的灵敏度更好。

## [0146] 表2空白限评价

[0147]

A 浓度 (RU/mL)	0	/			
B 浓度 (RU/mL)	5				
A 发光值	17563	18112	15886	16704	17817
	16496	16661	17144	17128	17409
	16965	16528	17152	16994	16206
	17698	18047	16657	16874	16636
B 发光值	155284	143521	/		
A 点发光均值 (M)	17034	/			
B 点发光均值	149402				
A 点发光标准差 (SD)	599				
M+2SD	18233				
空白限 (RU/mL)	0.045				

[0148]

表2-1空白限评价

[0149]

A 浓度 (RU/mL)	0	/
--------------	---	---

	B 浓度 (RU/mL)	5				
	A 发光值	28070	30311	31106	30827	27134
		28542	29086	30971	31535	31690
		25777	31292	18543	17222	24785
		25958	25211	18652	32042	30365
	B 发光值	132829	131362	/		
[0150]	A 点发光均值 (M)	27456	/			
	B 点发光均值	132096				
	A 点发光标准差 (SD)	4629				
	M+2SD	36715				
	空白限 (RU/mL)	0.442				

[0151] 3. 线性范围评价

[0152] 用实施例7的试剂盒,将接近线性范围上限(200RU/mL)的高值样本按一定比例稀释为至少5种浓度,其中低值浓度的样本须接近线性范围的下限。按试剂盒说明书进行操作,对每一浓度的样本均重复检测2次,计算其平均值,将结果平均值和稀释比例用最小二乘法进行直线拟合,并计算线性相关系数 $r$ ,本方法的测量范围为[2,200]RU/mL,要求在此范围内,相关系数 $r$ 应 $\geq 0.9900$ 。数据参见表3,拟合曲线及相关系数见图3,评价结果符合要求。

[0153] 表3线性范围评价

	线性高值浓度	180				
	稀释梯度	1/81	1/27	1/9	1/3	1
[0154]	测试 1 浓度 (RU/mL)	2.36	6.48	18.86	56.89	177.34
	测试 2 浓度 (RU/mL)	2.10	6.81	21.47	58.54	165.75
	浓度均值	2.23	6.65	20.16	57.72	171.55
	相关系数 $r$	1.0000				

[0155] 4. 重复性评价

[0156] 用实施例7和对比例1中的试剂盒重复检测浓度为(20±4)RU/mL和(100±20)RU/mL的样本各10次,计算10次测量结果的平均值M和标准差SD,根据公式 $CV = SD/M \times 100\%$ 得出变异系数CV,本方法变异系数(CV)要求不大于8%,数据参见表4,对比例1制备的试剂盒测得的重复性数据见表4-1,由数据可见,实施例7与对比例1相比,得到的CV值更低,代表试剂盒的重复性更好,

[0157]  $CV = SD/M \times 100\% \dots\dots\dots(2)$

[0158] 式中:CV-变异系数;SD-10次测量结果的标准差;M-10次测量结果的平均值。

[0159] 表4重复性评价

[0160]

测定血清浓度(RU/mL)	测定次数	分析内CV(%)
20	10	4.97%
100	10	3.11%

[0161] 表4-1重复性评价

[0162]

测定血清浓度(RU/mL)	测定次数	分析内CV(%)
20	10	7.24%
100	10	7.06%

[0163] 5.批间差评价

[0164] 将实施例7和对比例1的试剂盒分别取三批,每批试剂盒均测定浓度在(20±4)RU/mL和(100±20)RU/mL范围内的样本,每批重复测定10次,计算30次测定结果的平均值(M)和标准差(SD),根据公式(3)计算变异系数(CV),本方法变异系数(CV)要求不大于15%,数据参见表5,对比例1制备的试剂盒测得的批间差数据见表5-1,由数据可见,实施例7与对比例1相比,得到的CV值更低,代表试剂盒的批间差更好,

[0165]  $CV = SD/M \times 100\% \dots\dots\dots(3)$

[0166] 式中:CV-变异系数;SD-30次测定结果的标准差;M-30次测定结果的平均值。

[0167] 表5批间差评价

[0168]

测定血清浓度(RU/mL)	测定次数	分析间CV(%)
20	30	4.86%
100	30	3.25%

[0169] 表5-1批间差评价

[0170]

测定血清浓度(RU/mL)	测定次数	分析间CV(%)
20	30	8.49%
100	30	9.55%

[0171] 6.特异性评价

[0172] 用实施例7的试剂盒,取1份抗组蛋白抗体IgG含量为0的样本,加入人血清白蛋白,使样本中人血清白蛋白浓度为5000ng/mL,使用该试剂盒对该样本进行检测,测定样本中的抗组蛋白抗体IgG含量。结果见表6,本方法与人血清白蛋白无交叉反应。数据参见表6,评价

结果符合要求。

[0173] 表6特异性实验

[0174]	测试交叉反应物	浓 度 (ng/mL)	RLU	测定结果 (RU/mL)
	人血清白蛋白	5000	15190	<1

[0175] 7. 相关性评价

[0176] 用实施例7的试剂盒和商品化的抗组蛋白抗体IgG检测试剂盒(酶联免疫吸附法)对240份人血清样品同时进行检测。其检测结果参见附图4,以抗组蛋白抗体IgG检测试剂盒(酶联免疫吸附法)测定的结果为横坐标,以本发明方法的测定的结果为纵坐标作回归分析,相关方程为: $y=1.0187x+0.0565$ ,相关系数为 $R^2:0.9846$ 。经统计学处理结果表明,本方法同其他方法的试剂盒临床样本测值相关性良好。

[0177] 8. 稳定性评价

[0178] 对实施例7的试剂盒分别进行4℃12个月和37℃7天的加速稳定性实验,结果表明试剂盒标准品发光强度的变化、批内和批间精密度、准确度等指标均在正常范围之内,试剂盒有效期可达12个月。

[0179] 显然,本发明的上述实施例仅仅是为清楚地说明本发明所作的举例,而并非是对本发明的实施方式的限定,对于所属领域的普通技术人员来说,在上述说明的基础上还可以做出其它不同形式的变化或变动,这里无法对所有的实施方式予以穷举,凡是属于本发明的技术方案所引伸出的显而易见的变化或变动仍处于本发明的保护范围之列。

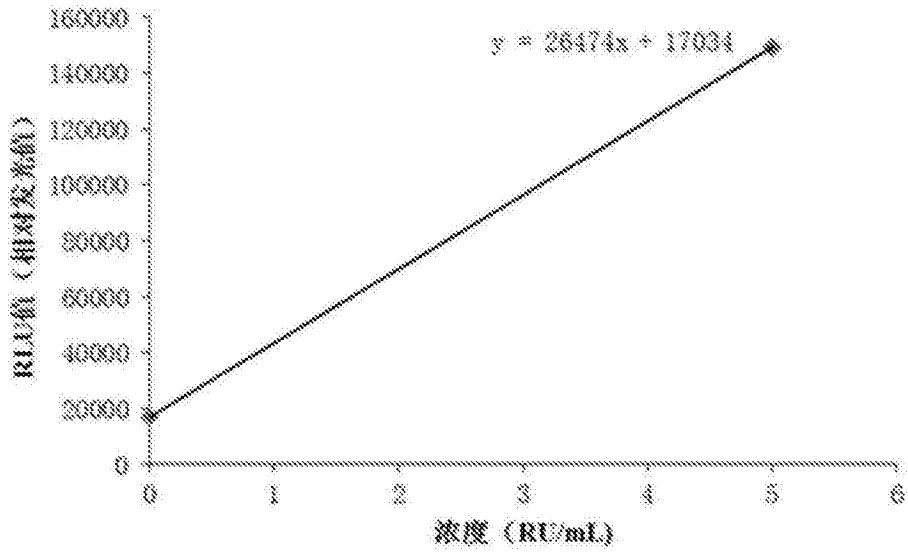


图1

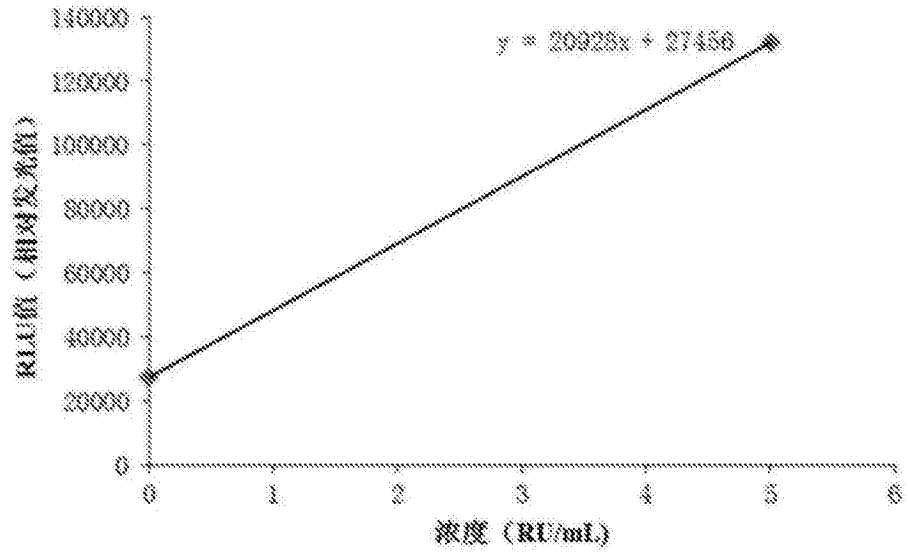


图2

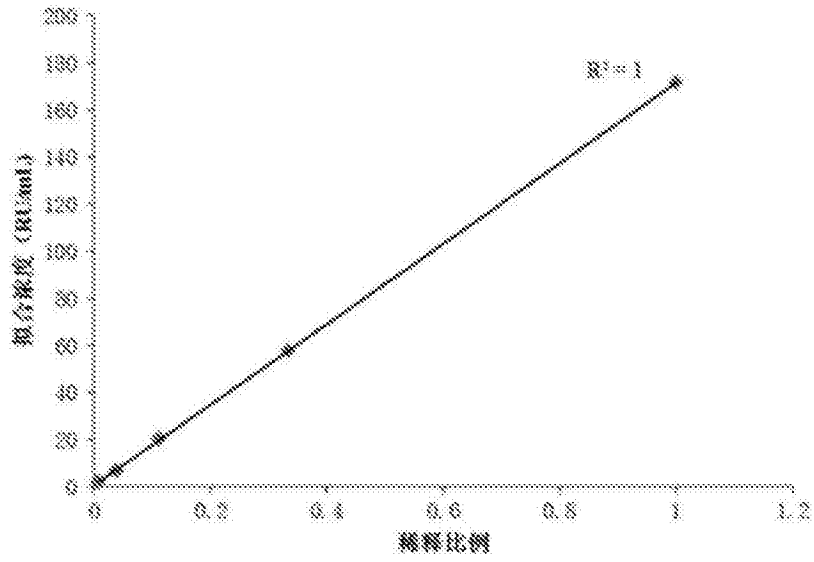


图3

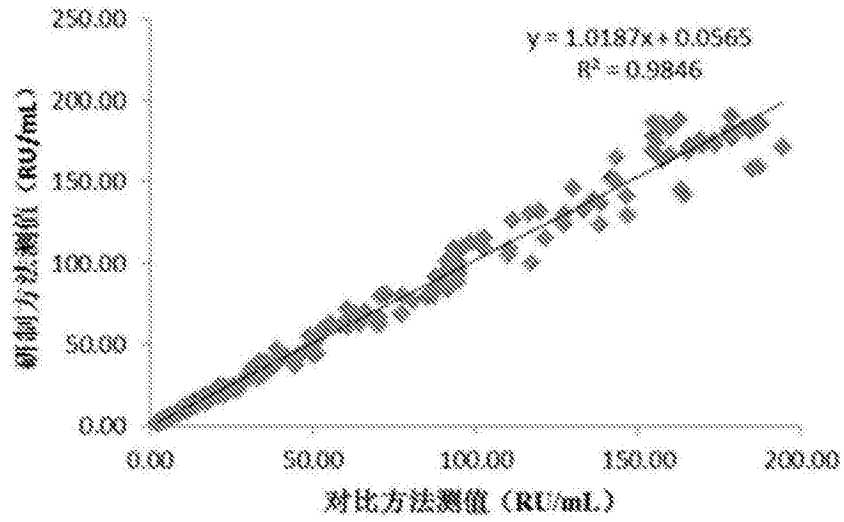


图4

专利名称(译)	一种抗组蛋白抗体IgG的磁微粒化学发光定量测定试剂盒及制备和检测方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN105954267A</a>	公开(公告)日	2016-09-21
申请号	CN201610249004.2	申请日	2016-04-20
[标]申请(专利权)人(译)	北京中航赛维生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	北京中航赛维生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	北京中航赛维生物科技有限公司		
[标]发明人	不公告发明人		
发明人	不公告发明人		
IPC分类号	G01N21/76 G01N33/532 G01N33/535		
CPC分类号	G01N21/76 G01N33/532 G01N33/535		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>	<a href="#">SIPO</a>	

摘要(译)

本发明公开一种抗组蛋白抗体IgG的磁微粒化学发光定量测定试剂盒，该试剂盒包括：抗组蛋白抗体IgG校准品；抗组蛋白抗体IgG质控品；含生物素标记的组蛋白抗原和牛血清白蛋白的Tris缓冲液；含碱性磷酸酶标记的羊抗人多克隆抗体和牛血清白蛋白的Tris缓冲液；含有链霉亲和素标记的磁微粒和牛血清白蛋白的Tris缓冲液；清洗液。该试剂盒的检测方法在传统的膜条免疫法和酶联免疫吸附法的基础上，将灵敏度和线性范围再提高3-5个数量级，实现真正意义的定量检测，反应迅速，结果可靠，并能配合全自动化学发光免疫分析仪实现全自动使用，对于临床诊断具有无可替代的重要价值。

