



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108152518 A

(43)申请公布日 2018.06.12

(21)申请号 201711143540.5

G01N 33/574(2006.01)

(22)申请日 2017.11.17

G01N 33/576(2006.01)

(71)申请人 安徽伊普诺康生物技术股份有限公司

地址 236000 安徽省合肥市包河经济开发区繁华大道与吉林路交口东南角联东U谷第一期18号楼1-4层

(72)发明人 庄庆华 朱卫中 吴铮 丁先骏
朱雨

(74)专利代理机构 合肥市浩智运专利代理事务所(普通合伙) 34124

代理人 王志兴

(51)Int.Cl.

G01N 33/96(2006.01)

G01N 33/535(2006.01)

权利要求书3页 说明书11页

(54)发明名称

一种测定血清甘胆酸的试剂盒及其制备使用方法

(57)摘要

本发明公开了一种测定血清甘胆酸的试剂盒,涉及医学及生物化学技术领域,包括彼此独立的试剂R1和试剂R2双液体组分,试剂R1包括:Tris缓冲液、PEG-8000、NaCl、吐温-80、甘油,溶剂为纯化水;试剂R2包括:Tris缓冲液、吐温-80、NaCl、海藻糖、牛血清白蛋白、胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体、NaN₃,溶剂为纯化水。本发明还公开了一种测定血清甘胆酸的试剂盒的制备和使用方法。本发明相比现有技术的优点在于:本发明所提供的胶乳增强免疫比浊法检测血清中的甘胆酸为竞争法,采用本发明试剂盒测定血清甘胆酸,操作简单、无污染、灵敏度高、特异性好、成本低。

1. 一种测定血清甘胆酸的试剂盒, 其特征在于, 包括彼此独立的试剂R1和试剂R2双液体组分, 包括的成分及相应含量为:

试剂R1:

Tris 缓冲液	14-15 g/L
PEG-8000	43-47 g/L
NaCl	138-142 mM
吐温-80	0.6-1.0 ml/L
甘油	0.3-0.7 ml/L

其溶剂为纯化水;

试剂R2:

Tris 缓冲液	12.1-12.2 g/L
吐温-80	1.1-1.3 ml/L
NaCl	98-102 mM
海藻糖	18-22 g/L
牛血清白蛋白	43-47 g/L
胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体	0.8-1.2 %
NaN ₃	0.3-0.7 g/L

其溶剂为纯化水。

2. 根据权利要求1所述的测定血清甘胆酸的试剂盒, 其特征在于, 包括彼此独立的试剂R1和试剂R2双液体组分, 包括的成分及相应含量为:

试剂R1:

Tris 缓冲液	14.53 g/L
PEG-8000	45 g/L
NaCl	140 mM
吐温-80	0.8 ml/L
甘油	0.5 ml/L

其溶剂为纯化水;

试剂R2:

Tris 缓冲液	12.114 g/L
吐温-80	1.2 ml/L
NaCl	100 mM
海藻糖	20 g/L
牛血清白蛋白	45 g/L
胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体	1.0%
NaN ₃	0.5 g/L

其溶剂为纯化水。

3. 根据权利要求1所述的测定血清甘胆酸的试剂盒, 其特征在于, 包括彼此独立的试剂R1和试剂R2双液体组分, 包括的成分及相应含量为:

试剂R1:

Tris 缓冲液	14.8 g/L
PEG-8000	46 g/L
NaCl	141 mM
吐温-80	0.9 ml/L
甘油	0.6 ml/L

其溶剂为纯化水;

试剂R2:

Tris 缓冲液	12.15 g/L
吐温-80	1.25 ml/L
NaCl	101 mM
海藻糖	21 g/L
牛血清白蛋白	46 g/L
胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体	1.1 %
NaN ₃	0.6 g/L

其溶剂为纯化水。

4. 根据权利要求1-3任一项所述的测定血清甘胆酸的试剂盒,其特征在于,所述试剂R1中Tris缓冲液的pH值为8.0。

5. 根据权利要求1-3任一项所述的测定血清甘胆酸的试剂盒,其特征在于,所述试剂R2中Tris缓冲液的pH值为7.5。

6. 一种制备如权利要求1-5任一项所述的测定血清甘胆酸的试剂盒的方法,其特征在于,包括如下步骤:

(1) 配制试剂R1

①按照试剂R1的组分含量,配制Tris缓冲液,调节pH,作为R1缓冲液;

②按照试剂R1的组分含量,将PEG-8000、NaCl、吐温-80和甘油溶于制得的R1缓冲液中,搅拌均匀,得试剂R1;

(2) 配制试剂R2

①按照试剂R2的组分含量,配制Tris缓冲液,调节pH,作为R2缓冲液;

②按照试剂R2的组分含量,将吐温-80、NaCl、海藻糖、牛血清白蛋白、和 NaN_3 溶于制得的R2缓冲液中,搅拌均匀,得R2分散液;

③制备胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体:

a. 取粒径为120nm的胶乳微球于100mM MES缓冲液中,加入50g/L的EDAC溶液混匀后于37°C环境中孵育混匀1.5-2.5h,离心去上清;

b. 加入50g/L的NHS溶液恢复至原体积后,混匀于37°C环境中孵育混匀1.5-2.5h,离心去上清;

c. 在上述步骤b所得的沉淀中用MES缓冲液恢复至原体积,超声分散混匀后加入甘胆酸多克隆抗体,于37°C下反应45-50h,离心弃上清,将沉淀物分散于原体积的MES缓冲液中,反复2-4次,最后将沉淀物分散于原体积的MES缓冲液中,加入50g/L的BSA;

d. 2-8°C封存45-50h,得最终所需的胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体;

④用R2分散液来溶解得到的胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体,超声分散,最终制得试剂R2。

7. 一种使用如权利要求1-5任一项所述的测定血清甘胆酸的试剂盒的方法,其特征在于,包括如下步骤:

(1) 将待测样品与试剂R1混合,37°C孵育5min;

(2) 用全自动生化分析仪测定其吸光度A1;

(3) 与试剂R2混合,反应5min;

(4) 用全自动生化分析仪测定反应后的吸光度A2;

(5) 根据吸光度变化值计算出样本中的甘胆酸的浓度。

8. 根据权利要求7所述的测定血清甘胆酸的试剂盒的使用方法,其特征在于,所述步骤(1)和步骤(3)中,试剂R1和试剂R2按照体积比4:1混合。

9. 根据权利要求7所述的测定血清甘胆酸的试剂盒的使用方法,其特征在于,所述步骤(2)和步骤(4)中,在主波长600nm处用全自动生化分析仪测定其吸光度。

10. 根据权利要求9所述的测定血清甘胆酸的试剂盒的使用方法,其特征在于,所述步骤(5)中,吸光度变化值为 ΔA ,即 $\Delta A = A2 - A1$ 。

一种测定血清甘胆酸的试剂盒及其制备使用方法

技术领域

[0001] 本发明涉及医学及生物化学技术领域,尤其涉及一种适用于全自动生化分析的测定血清甘胆酸的试剂盒及其制备使用方法。

背景技术

[0002] 血清甘胆酸(CG)是胆酸与甘氨酸结合二次的结合型胆酸之一,在肝细胞内,胆固醇经过极其复杂的酶促反应,转变成初级胆汁酸。其中有胆酸(CA)和鹅去氧胆酸(CD-CA)。胆酸的类固醇核上有三个羟基(C3、C7、C12),侧链末端的羟基以肽键与甘氨酸结合,分子量为462U。

[0003] CG正常代谢途径为肠—肝循环,CG由肝细胞合成,经毛细胆管、胆管排入胆囊,随同胆汁进入十二指肠,帮助食物消化。95%胆酸在回肠末端重吸收,经门静脉再回肝脏,由肝细胞摄取再利用。在血清中主要以蛋白结合形式存在,溢入体循环的总量小于1%。在正常情况下,外周血中胆酸含量甚微,正常成人无论空腹或餐后,其血清CG浓度稳定在低水平。

[0004] 甘胆酸是肝脏分泌到胆汁中最大量的有机酸,进入肠腔帮助脂肪消化吸收,在回肠和结肠大部分被重吸收,经门静脉入肝脏。肝细胞能高效能地从门静脉摄取大量的甘胆酸,以致血液中的甘胆酸量小于1.9g/mL。重吸收的甘胆酸又进入肝肠循环,通过这种机制,机体能充分利用甘胆酸。一旦肝细胞病变,血中的甘胆酸浓度升高,其中急性肝炎、慢性肝炎轻度升高,肝硬变,肝癌病人显著升高。

[0005] 当肝细胞受损时,肝细胞摄取CG能力下降,致使血中CG含量增高;胆汁郁滞时,肝脏排泄胆酸发生障碍,而返流血液循环的CG含量增高,也使血CG含量增高。因此,测定血清甘胆酸(CG)是评价肝细胞功能及其肝胆系物质循环功能的敏感指标之一。

[0006] 目前已知的血清甘胆酸测定方法有放射免疫法(RIA)、酶联免疫吸附实验(ELISA)、电化学发光和均相酶免疫法等。

[0007] 然而,放射免疫法(RIA)有污染,对环境的防护要求高,放射性废物处理较困难;酶联免疫吸附实验(ELISA)法操作耗时,定量效果差;均相酶免疫法抗干扰能力较差;电化学发光所需仪器较昂贵。

[0008] 因此,目前急需一种操作简单、无污染、灵敏度高、特异性好、成本低的测定血清甘胆酸的试剂盒及其制备使用方法。

发明内容

[0009] 本发明的目的在于克服现有技术的不足,提供了一种操作简单、无污染、灵敏度高、特异性好、成本低的测定血清甘胆酸的试剂盒及其制备使用方法。

[0010] 本发明是通过以下技术方案实现的:一种测定血清甘胆酸的试剂盒,包括彼此独立的试剂R1和试剂R2双液体组分,包括的成分及相应含量为:

[0011] 试剂R1:

[0012]	Tris 缓冲液	14-15 g/L
	PEG-8000	43-47 g/L
	NaCl	138-142 mM
	吐温-80	0.6-1.0 ml/L
	甘油	0.3-0.7 ml/L
[0013]	其溶剂为纯化水；	
	试剂R2：	
	Tris 缓冲液	12.1-12.2 g/L
	吐温-80	1.1-1.3 ml/L
	NaCl	98-102 mM
[0014]	海藻糖	18-22 g/L
	牛血清白蛋白	43-47 g/L
	胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体	0.8-1.2 %
	NaN ₃	0.3-0.7 g/L

其溶剂为纯化水。

[0015] 作为本发明的优选方式之一，包括彼此独立的试剂R1和试剂R2双液体组分，包括的成分及相应含量为：

[0016] 试剂R1：

[0017]	Tris 缓冲液	14.53 g/L
	PEG-8000	45 g/L
	NaCl	140 mM
	吐温-80	0.8 ml/L
	甘油	0.5 ml/L

其溶剂为纯化水；

[0018] 试剂R2：

[0019]	Tris 缓冲液	12.114 g/L
	吐温-80	1.2 ml/L
	NaCl	100 mM
	海藻糖	20 g/L
	牛血清白蛋白	45 g/L
[0020]	胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体	1.0%
	NaN ₃	0.5 g/L

其溶剂为纯化水。

[0021] 作为本发明的优选方式之一,包括彼此独立的试剂R1和试剂R2双液体组分,包括的成分及相应含量为:

[0022] 试剂R1:

[0023]	Tris 缓冲液	14.8 g/L
	PEG-8000	46 g/L
	NaCl	141 mM
	吐温-80	0.9 ml/L
	甘油	0.6 ml/L

其溶剂为纯化水;

[0024] 试剂R2:

Tris 缓冲液	12.15 g/L
吐温-80	1.25 ml/L
NaCl	101 mM
海藻糖	21 g/L
[0025] 牛血清白蛋白	46 g/L
胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体	1.1 %
NaN ₃	0.6 g/L

其溶剂为纯化水。

[0026] 作为本发明的优选方式之一,所述试剂R1中Tris缓冲液的pH值为8.0。

[0027] 作为本发明的优选方式之一,所述试剂R2中Tris缓冲液的pH值为7.5。

[0028] 一种测定血清甘胆酸的试剂盒的制备方法,包括如下步骤:

[0029] (1) 配制试剂R1

[0030] ①按照试剂R1的组分含量,配制Tris缓冲液,调节pH,作为R1缓冲液;

[0031] ②按照试剂R1的组分含量,将PEG-8000、NaCl、吐温-80和甘油溶于制得的R1缓冲液中,搅拌均匀,得试剂R1;

[0032] (2) 配制试剂R2

[0033] ①按照试剂R2的组分含量,配制Tris缓冲液,调节pH,作为R2缓冲液;

[0034] ②按照试剂R2的组分含量,将吐温-80、NaCl、海藻糖、牛血清白蛋白、和NaN₃溶于制得的R2缓冲液中,搅拌均匀,得R2分散液;

[0035] ③制备胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体:

[0036] a. 取粒径为120nm的胶乳微球于100mM MES缓冲液中,加入50g/L的EDAC溶液混匀后于37℃环境中孵育混匀1.5-2.5h,离心去上清;

[0037] b. 加入50g/L的NHS溶液恢复至原体积后,混匀于37℃环境中孵育混匀1.5-2.5h,离心去上清;

[0038] c. 在上述步骤b所得的沉淀中用MES缓冲液恢复至原体积,超声分散混匀后加入甘胆酸多克隆抗体,于37℃下反应45-50h,离心弃上清,将沉淀物分散于原体积的MES缓冲液中,反复2-4次,最后将沉淀物分散于原体积的MES缓冲液中,加入50g/L的BSA;

[0039] d. 2-8℃封存45-50h,得最终所需的胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体;

[0040] ④用R2分散液来溶解得到的胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体,超声分散,最终制得试剂R2。

[0041] 一种测定血清甘胆酸的试剂盒的使用方法,包括如下步骤:

[0042] (1) 将待测样品与试剂R1混合,37℃孵育5min;

[0043] (2) 用全自动生化分析仪测定其吸光度A1;

[0044] (3) 与试剂R2混合,反应5min;

- [0045] (4) 用全自动生化分析仪测定反应后的吸光度A₂;
- [0046] (5) 根据吸光度变化值计算出样本中的甘胆酸的浓度。
- [0047] 作为本发明的优选方式之一,所述步骤(1)和步骤(3)中,试剂R1和试剂R2按照体积比4:1混合。
- [0048] 作为本发明的优选方式之一,所述步骤(2)和步骤(4)中,在主波长600nm处用全自动生化分析仪测定其吸光度。
- [0049] 作为本发明的优选方式之一,所述步骤(5)中,吸光度变化值为 ΔA ,即 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。
- [0050] 本发明相比现有技术的优点在于:
- [0051] (1) 本发明试剂R2中的海藻糖和吐温-80有利于抗体的保护和抗原抗体反应复合物的稳定存在;
- [0052] (2) 本发明所提供的胶乳增强免疫比浊法检测血清中的甘胆酸为竞争法,试剂R2中所使用的多克隆抗体为酶供体标记过的抗体,与标本中的甘胆酸竞争性结合多克隆抗体上的位点,通过反应浊度的变化计算样本中的浓度;
- [0053] (3) 采用本发明试剂盒测定血清甘胆酸,操作简单、无污染、灵敏度高、特异性好、成本低。

具体实施方式

[0054] 下面对本发明的实施例作详细说明,本实施例在以本发明技术方案为前提下进行实施,给出了详细的实施方式和具体的操作过程,但本发明的保护范围不限于下述的实施例。

[0055] 实施例1

[0056] 本实施例的一种测定血清甘胆酸的试剂盒,包括彼此独立的试剂R1和试剂R2双液体组分,包括的成分及相应含量为:

[0057] 试剂R1:

Tris 缓冲液 (pH 8.0)	14 g/L
-------------------	--------

PEG-8000	43 g/L
----------	--------

NaCl	138 mM
------	--------

[0058]

吐温-80	0.6 ml/L
-------	----------

甘油	0.3 ml/L
----	----------

其溶剂为纯化水;

[0059] 试剂R2:

[0060]	Tris 缓冲液 (pH7.5)	12.1 g/L
	吐温-80	1.1 ml/L
	NaCl	98 mM
	海藻糖	18 g/L
	牛血清白蛋白	43 g/L
	胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体	0.8 %
	NaN ₃	0.3 g/L

其溶剂为纯化水。

[0061] 实施例2

[0062] 本实施例的一种测定血清甘胆酸的试剂盒,包括彼此独立的试剂R1和试剂R2双液体组分,包括的成分及相应含量为:

[0063] 试剂R1:

[0064]	Tris 缓冲液 (pH 8.0)	15 g/L
	PEG-8000	47 g/L
	NaCl	142 mM
	吐温-80	1.0 ml/L
	甘油	0.7 ml/L

其溶剂为纯化水;

[0065] 试剂R2:

	Tris 缓冲液 (pH7.5)	12.2 g/L
	吐温-80	1.3 ml/L
	NaCl	102 mM
	海藻糖	22 g/L
[0066]	牛血清白蛋白	47 g/L
	胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体	1.2 %
	NaN ₃	0.7 g/L

其溶剂为纯化水。

[0067] 实施例3

[0068] 本实施例的一种测定血清甘胆酸的试剂盒,包括彼此独立的试剂R1和试剂R2双液体组分,包括的成分及相应含量为:

[0069] 试剂R1:

	Tris 缓冲液 (pH 8.0)	14.53 g/L
[0070]	PEG-8000	45 g/L
	NaCl	140 mM
	吐温-80	0.8 ml/L
[0071]	甘油	0.5 ml/L

其溶剂为纯化水;

[0072] 试剂R2:

[0073]	Tris 缓冲液 (pH 7.5)	12.114 g/L
	吐温-80	1.2 ml/L
	NaCl	100 mM
	海藻糖	20 g/L
	牛血清白蛋白	45 g/L
	胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体	1.0%
	NaN ₃	0.5 g/L

其溶剂为纯化水。

[0074] 实施例4

[0075] 本实施例的一种测定血清甘胆酸的试剂盒,包括彼此独立的试剂R1和试剂R2双液体组分,包括的成分及相应含量为:

[0076] 试剂R1:

[0077]	Tris 缓冲液 (pH 8.0)	14.8 g/L
	PEG-8000	46 g/L
	NaCl	141 mM
	吐温-80	0.9 ml/L
	甘油	0.6 ml/L

其溶剂为纯化水;

[0078] 试剂R2:

	Tris 缓冲液 (pH 7.5)	12.15 g/L
	吐温-80	1.25 ml/L
	NaCl	101 mM
	海藻糖	21 g/L
[0079]	牛血清白蛋白	46 g/L
	胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体	1.1 %
	NaN ₃	0.6 g/L

其溶剂为纯化水。

[0080] 实施例5

[0081] 本实施例的一种制备上述实施例中测定血清甘胆酸的试剂盒的方法,包括如下步骤:

[0082] (1) 配制试剂R1

[0083] ①按照试剂R1的组分含量,配制Tris缓冲液,调节pH,作为R1缓冲液;

[0084] ②按照试剂R1的组分含量,将PEG-8000、NaCl、吐温-80和甘油溶于制得的R1缓冲液中,搅拌均匀,得试剂R1;

[0085] (2) 配制试剂R2

[0086] ①按照试剂R2的组分含量,配制Tris缓冲液,调节pH,作为R2缓冲液;

[0087] ②按照试剂R2的组分含量,将吐温-80、NaCl、海藻糖、牛血清白蛋白、和NaN₃溶于制得的R2缓冲液中,搅拌均匀,得R2分散液;

[0088] ③制备胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体:

[0089] a. 取粒径为120nm的胶乳微球于100mM MES缓冲液中,加入50g/L的EDAC溶液混匀后于37℃环境中孵育混匀1.5h,离心去上清;

[0090] b. 加入50g/L的NHS溶液恢复至原体积后,混匀于37℃环境中孵育混匀1.5h,离心去上清;

[0091] c. 在上述步骤b所得的沉淀中用MES缓冲液恢复至原体积,超声分散混匀后加入甘胆酸多克隆抗体,于37℃下反应45h,离心弃上清,将沉淀物分散于原体积的MES缓冲液中,反复2次,最后将沉淀物分散于原体积的MES缓冲液中,加入50g/L的BSA;

[0092] d. 2℃封存45h,得最终所需的胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体;

[0093] ④用R2分散液来溶解得到的胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体,超声分散,最终制得试剂R2。

[0094] 实施例6

[0095] 本实施例的一种制备上述实施例中测定血清甘胆酸的试剂盒的方法,包括如下步骤:

[0096] (1) 配制试剂R1

- [0097] ①按照试剂R1的组分含量,配制Tris缓冲液,调节pH,作为R1缓冲液;
- [0098] ②按照试剂R1的组分含量,将PEG-8000、NaCl、吐温-80和甘油溶于制得的R1缓冲液中,搅拌均匀,得试剂R1;
- [0099] (2) 配制试剂R2
- [0100] ①按照试剂R2的组分含量,配制Tris缓冲液,调节pH,作为R2缓冲液;
- [0101] ②按照试剂R2的组分含量,将吐温-80、NaCl、海藻糖、牛血清白蛋白、和NaN₃溶于制得的R2缓冲液中,搅拌均匀,得R2分散液;
- [0102] ③制备胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体:
- [0103] a. 取粒径为120nm的胶乳微球于100mM MES缓冲液中,加入50g/L的EDAC溶液混匀后于37℃环境中孵育混匀2.5h,离心去上清;
- [0104] b. 加入50g/L的NHS溶液恢复至原体积后,混匀于37℃环境中孵育混匀2.5h,离心去上清;
- [0105] c. 在上述步骤b所得的沉淀中用MES缓冲液恢复至原体积,超声分散混匀后加入甘胆酸多克隆抗体,于37℃下反应50h,离心弃上清,将沉淀物分散于原体积的MES缓冲液中,反复4次,最后将沉淀物分散于原体积的MES缓冲液中,加入50g/L的BSA;
- [0106] d. 8℃封存50h,得最终所需的胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体;
- [0107] ④用R2分散液来溶解得到的胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体,超声分散,最终制得试剂R2。
- [0108] 实施例7
- [0109] 本实施例的一种制备上述实施例中测定血清甘胆酸的试剂盒的方法,包括如下步骤:
- [0110] (1) 配制试剂R1
- [0111] ①按照试剂R1的组分含量,配制Tris缓冲液,调节pH,作为R1缓冲液;
- [0112] ②按照试剂R1的组分含量,将PEG-8000、NaCl、吐温-80和甘油溶于制得的R1缓冲液中,搅拌均匀,得试剂R1;
- [0113] (2) 配制试剂R2
- [0114] ①按照试剂R2的组分含量,配制Tris缓冲液,调节pH,作为R2缓冲液;
- [0115] ②按照试剂R2的组分含量,将吐温-80、NaCl、海藻糖、牛血清白蛋白、和NaN₃溶于制得的R2缓冲液中,搅拌均匀,得R2分散液;
- [0116] ③制备胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体:
- [0117] a. 取粒径为120nm的胶乳微球于100mM MES缓冲液中,加入50g/L的EDAC溶液混匀后于37℃环境中孵育混匀2h,离心去上清;
- [0118] b. 加入50g/L的NHS溶液恢复至原体积后,混匀于37℃环境中孵育混匀2h,离心去上清;
- [0119] c. 在上述步骤b所得的沉淀中用MES缓冲液恢复至原体积,超声分散混匀后加入甘胆酸多克隆抗体,于37℃下反应48h,离心弃上清,将沉淀物分散于原体积的MES缓冲液中,反复3次,最后将沉淀物分散于原体积的MES缓冲液中,加入50g/L的BSA;
- [0120] d. 4℃封存48h,得最终所需的胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体;
- [0121] ④用R2分散液来溶解得到的胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体,超声分散,最终制得

试剂R2。

[0122] 实施例8

[0123] 本实施例的一种使用上述实施例中测定血清甘胆酸的试剂盒的方法,包括如下步骤:

[0124] (1) 将6uL待测样品与240uL试剂R1混合,37℃孵育5min;

[0125] (2) 用全自动生化分析仪在主波长600nm处测定其吸光度A1;

[0126] (3) 与60uL试剂R2混合,反应5min;

[0127] (4) 用全自动生化分析仪在主波长600nm处测定反应后的吸光度A2;

[0128] (5) 根据吸光度变化值 $\Delta A = A2 - A1$ 计算出样本中的甘胆酸的浓度。

[0129] 本实施例采用两点终点法,反应方向为负反应,从开始到结束仅需10min,且操作简单、无污染、灵敏度高、特异性好、成本低。

[0130] 以上所述仅为本发明的较佳实施例而已,并不用以限制本发明,凡在本发明的精神和原则之内所作的任何修改、等同替换和改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

专利名称(译)	一种测定血清甘胆酸的试剂盒及其制备使用方法		
公开(公告)号	CN108152518A	公开(公告)日	2018-06-12
申请号	CN201711143540.5	申请日	2017-11-17
[标]申请(专利权)人(译)	安徽伊普诺康生物技术股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	安徽伊普诺康生物技术股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	安徽伊普诺康生物技术股份有限公司		
[标]发明人	庄庆华 朱卫中 吴铮 丁先骏 朱雨		
发明人	庄庆华 朱卫中 吴铮 丁先骏 朱雨		
IPC分类号	G01N33/96 G01N33/535 G01N33/574 G01N33/576		
CPC分类号	G01N33/96 G01N33/535 G01N33/574 G01N33/57438 G01N33/576 G01N2800/085		
代理人(译)	王志兴		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)	Tris 缓冲液	14-15 g/L
本发明公开了一种测定血清甘胆酸的试剂盒，涉及医学及生物化学技术领域，包括彼此独立的试剂R1和试剂R2双液体组分，试剂R1包括：Tris缓冲液、PEG-8000、NaCl、吐温-80、甘油，溶剂为纯化水；试剂R2包括：Tris缓冲液、吐温-80、NaCl、海藻糖、牛血清白蛋白、胶乳包被的甘胆酸多克隆抗体、NaN₃，溶剂为纯化水。本发明还公开了一种测定血清甘胆酸的试剂盒的制备和使用方法。本发明相比现有技术的优点在于：本发明所提供的胶乳增强免疫比浊法检测血清中的甘胆酸为竞争法，采用本发明试剂盒测定血清甘胆酸，操作简单、无污染、灵敏度高、特异性好、成本低。	PEG-8000	43-47 g/L
	NaCl	138-142 mM
	吐温-80	0.6-1.0 ml/L
	甘油	0.3-0.7 ml/L
	其溶剂为纯化水；	