

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810105416.4

[51] Int. Cl.

G01N 33/573 (2006.01)

G01N 21/76 (2006.01)

G01N 33/535 (2006.01)

[43] 公开日 2009年2月18日

[11] 公开号 CN 101368957A

[22] 申请日 2008.4.29

[21] 申请号 200810105416.4

[71] 申请人 北京科美东雅生物技术有限公司

地址 100094 北京市海淀区永丰基地丰贤中
路7号北科技园

[72] 发明人 王宏锐 应希堂 胡国茂 郑金来
唐宝军 于尚永

权利要求书2页 说明书13页

[54] 发明名称

谷氨酸脱羧酶抗体化学发光免疫分析测定试剂盒及其制备方法

[57] 摘要

本发明公开了一种谷氨酸脱羧酶抗体(GAD - Ab)化学发光免疫分析测定试剂盒及其制备方法。本发明试剂盒包括: GAD - Ab 阴性、阳性对照品; 包被微孔板; 样本稀释液; 辣根过氧化物酶标记物; 洗涤液; 化学发光底物液。根据本发明制备上述试剂盒的制备方法包括: 制备 GAD - Ab 阴性、阳性对照品; 制备谷氨酸脱羧酶(GAD)抗原包被的微孔板; 配制样本稀释液; 制备辣根过氧化物酶标记物; 配制洗涤液、配制化学发光底物液等步骤。本发明试剂盒操作简单, 无放射性污染, 可广泛应用于临床检测。

1、谷氨酸脱羧酶抗体 (GAD-Ab) 化学发光免疫分析测定试剂盒, 其特征在于, 所述试剂盒包括: 1) GAD-Ab 阴性对照品; 2) GAD-Ab 阳性对照品; 3) 谷氨酸脱羧酶 (GAD) 包被的微孔板; 4) 样本稀释液; 5) 辣根过氧化物酶标记的抗人 IgG 抗体; 6) 洗涤液; 7) 化学发光底物液。

2、如权利要求 1 所述的试剂盒, 其特征在于, 所述微孔板为 48 孔、96 孔微孔板。

3、如权利要求 1 所述的试剂盒, 其特征在于, 所述化学发光底物液包含 A 液和 B 液, 其中, 化学发光底物 A 液, 包括 1.7716g/L 鲁米诺、0.051g/L 4-羟基联苯、0.012g/L 4-碘苯硼酸、11.4g/L 硼酸、4.9g/L 硼砂, 其 pH 值为 8.0~8.5; 化学发光底物 B 液, 包括 0.329g/L 过氧化脲、0.01%Tween20、51.58g/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、8.74g/L $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 其 pH 值为 7.0~7.5。

4、根据权利要求 1 所述的试剂盒的一种制备方法, 其特征在于, 包括以下步骤: 制备 GAD-Ab 阴性对照品; 制备 GAD-Ab 阳性对照品; 制备谷氨酸脱羧酶 (GAD) 抗原包被的微孔板; 配制用于稀释血清样本的样本稀释液; 制备辣根过氧化物酶标记的抗人 IgG 抗体; 配制洗涤液; 配制化学发光底物液; 及组装各半成品为成品试剂盒。

5、如权利要求 4 所述的试剂盒的制备方法, 其特征在于, 所述制备 GAD-Ab 阴性对照品、阳性对照品, 其基质配方为: 含 2 g/L BSA, 1g/L 水解明胶, 0.1%Proclin300, 0.05mol/L PH 7.8 Tris-HCL。

6、如权利要求 4 所述的试剂盒的制备方法, 其特征在于, 所述制备谷氨酸脱羧酶 (GAD) 抗原包被的微孔板, 其包被缓冲液为 0.05M 磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲液。

7、如权利要求 4 所述的试剂盒的制备方法, 其特征在于, 所述血清样本的样本稀释液, 其配方为: 0.05M pH 值为 7.2 的磷酸盐缓冲液, 10g/LBSA, 0.3%Triton

X100。

8、如权利要求4所述试剂盒的制备方法，其特征在于，所述制备辣根过氧化物酶标记的抗人 IgG 抗体，标记方法采用过碘酸钠法，采用酶标记物稀释液将酶标记物稀释成工作浓度。

9、如权利要求8所述的制备方法，其特征在于，所述酶标记物稀释液，其配方为：0.05M pH值为7.2的磷酸盐缓冲液，15%新生牛血清。

10、如权利要求4所述的试剂盒制备方法，其特征在于，所述配制洗涤液，配方为：0.01M pH值为7.2的磷酸盐缓冲液，0.01%Tween20，2g/L KCl。

谷氨酸脱羧酶抗体化学发光免疫分析测定试剂盒及其制备方法

技术领域

本发明涉及免疫分析领域，具体地，本发明公开了一种谷氨酸脱羧酶抗体（GAD-Ab）化学发光免疫分析测定试剂盒及其制备方法。

背景技术

谷氨酸脱羧酶（GAD）是合成 γ 氨基丁酸（GABA）的限速酶，在胰岛 β 细胞中与胰岛素同处存在，同时分泌，具有自分泌和旁分泌信号调节 β 细胞合成及分泌胰岛素的功能。谷氨酸脱羧酶抗体（GAD-Ab）阳性患者中，一方面由于体内存在 GAD-Ab，GAD-Ab 与 GAD 结合后影响了 GABA 的合成速度，干扰了胰岛素合成及分泌的调节，使胰岛 β 细胞的胰岛素合成受到影响，导致体内循环中的胰岛素不足，从而引起胰岛素依赖的糖尿病。另一方面，机体产生的 GAD-Ab 激发了 T 淋巴细胞而引起 β 细胞的破坏。

绝大多数 1 型糖尿病是由免疫介导的胰岛 β 细胞破坏造成的。这种选择性破坏与细胞免疫和体液免疫有关。除巨噬细胞、淋巴细胞浸润外，胰岛细胞抗体（ICA）、谷氨酸脱羧酶抗体（GAD-Ab）、胰岛素自身抗体（IAA）可以预报 1 型糖尿病的发病。在诸多自身抗体中，GAD-Ab 出现早、持续时间长。在 1 型糖尿病诊断后 3-5 年，ICA 抗体滴度和检出率显著下降，10 年后仅 20% 的病人阳性。相反，GAD-Ab 下降幅度小，1 型糖尿病诊断 10 年后 54% 的病人中仍能检出 GAD-Ab。同时，与 ICA 相比，GAD-Ab 测定简单，费用低，易于标准化。因此，采用灵敏度高的 GAD-Ab 检测，可以尽可能多的从高危人群中诊断出 1 型糖尿病患者。

成人晚发自身免疫性糖尿病（LADA）发病初期，临床特点与 2 型糖尿病很相似，但短短的数年内就依赖于胰岛素治疗，实质上为 1 型糖尿病。表现为低体重指数，ICA 及其他一些自身抗体阳性。GAD-Ab 作为 LADA 诊断的免疫学指标，要优

于 ICA。GAD-Ab 检查有利于早期发现 LADA 病人，加强随诊，早期予以胰岛素治疗，可以保护残存的胰岛 β 细胞功能，减少近期和远期并发症。

2 型糖尿病是由胰岛素抵抗和（或）相对缺乏造成的，并非免疫介导的胰岛炎所致。故 2 型糖尿病患者 GAD-Ab 阳性率低于 1 型糖尿病患者。在 2 型糖尿病中，最初即应用胰岛素的病人及 GAD-Ab 阴性的病人，其胰岛 β 细胞功能衰减幅度要低的多，高滴度的 GAD-Ab 预示着更快的胰岛 β 细胞功能衰竭。因此，糖尿病发病时 GAD-Ab 的状态是预测其临床过程的理想指标，它可以将 LADA 与 2 型糖尿病区分开来。综上 GAD-Ab 的检测在糖尿病的预测、诊断及正确分型方面均具有重要价值。

目前用于检测 GAD-Ab 的免疫分析方法主要有放射免疫分析（RIA）、酶联免疫分析（ELISA）。根据大量的试验结果及临床应用资料，从实用性、稳定性、准确性及发展前景来看，化学发光免疫分析（CLIA）要大大优于酶免疫分析、放射免疫分析。

放射免疫分析技术因其使用放射性元素作为标记物，因此对环境有放射性污染，并存在操作复杂，试剂保存时间短等不足；酶免疫分析法存在灵敏度低，信噪比不高，灰区附近难以判定等方法学制约因素；化学发光免疫分析法是一种较先进而有效的方法，可使检测灵敏度达到 10^{-18} 摩尔水平，而且检测范围可达 6 个数量级，其酶标记物稳定，可长期使用。较 RIA 和 ELISA 优势明显。

发明内容

本发明的目的是提供一种谷氨酸脱羧酶抗体（GAD-Ab）化学发光免疫分析测定试剂盒及其制备方法。

根据本发明谷氨酸脱羧酶抗体（GAD-Ab）化学发光免疫分析测定试剂盒，其中，所述试剂盒包括：1）GAD-Ab 阴性对照品；2）GAD-Ab 阳性对照品；3）谷氨酸脱羧酶（GAD）抗原包被的微孔板；4）用于稀释血清样本的样本稀释液；5）辣

根过氧化物酶标记的抗人 IgG 抗体；6) 洗涤液；7) 化学发光底物液。

根据本发明的试剂盒，其中，所述微孔板为 48 孔、96 孔微孔板。

根据本发明的试剂盒，其中，所述化学发光底物液包含 A 液和 B 液，其中：

化学发光底物 A 液，包括 1.7716g/L 鲁米诺、0.051g/L 4-羟基联苯、0.012g/L 4-碘苯硼酸、11.4g/L 硼酸、4.9g/L 硼砂，其 pH 值为 8.0~8.5；

化学发光底物 B 液，包括 0.329g/L 过氧化脲、0.01%Tween20、51.58g/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、8.74g/L $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ，其 pH 值为 7.0~7.5。

化学发光底物液包含 A 液和 B 液使用方法：A、B 液双组分试剂，在使用前根据使用量计算完毕后 A: B 为 1: 1 混合，应保证在 6h 内使用。

谷氨酸脱羧酶抗体 (GAD-Ab) 化学发光免疫分析测定试剂盒的制备方法，包括：

A: 制备 GAD-Ab 阴性对照品

根据本发明试剂盒制备方法中，所述制备 GAD-Ab 阴性对照品、阳性对照品，其基质配方为：含 2 g/L BSA，1g/L 水解明胶，0.1%Proclin300，0.05mol/L PH 7.8 Tris-HCL。

配制基质液后，用此基质液做为阴性对照品，分装成 2ml/瓶后-20℃保存。

B: 制备 GAD-Ab 阳性对照品

配制基质液后，将 GAD-Ab 纯品稀释成适当浓度阳性对照，再加入 0.001%食品红后分装成 2ml/瓶，做为阳性对照品，-20℃保存。

C: 制备谷氨酸脱羧酶 (GAD) 抗原包被的微孔板

根据本发明试剂盒制备方法中,所述制备谷氨酸脱羧酶(GAD)抗原包被的微孔板,其包被缓冲液为0.05M磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲液。包被浓度1~3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 谷氨酸脱羧酶,4 $^{\circ}\text{C}$ 24h后,去离子水洗涤2次,2%BSA室温封闭3h后,在温度20-28 $^{\circ}\text{C}$ 及湿度小于或等于30%条件下干燥12h,装袋封装。

D: 配制用于稀释血清样本的样本稀释液

根据本发明试剂盒制备方法中,所述配制用于稀释血清样本的样本稀释液,其配方为:0.05M pH值为7.2的磷酸盐缓冲液,10g/LBSA,0.3%Triton X100。

E: 制备辣根过氧化物酶标记的抗人IgG抗体

根据本发明试剂盒制备方法中,所述制备辣根过氧化物酶标记的抗人IgG抗体,标记方法采用过碘酸钠法。其具体方法为:称5mgHRP溶于1ml双蒸水中,加入0.2ml新配的0.1M NaIO₄溶液,室温避光20min。1mM pH4.4醋酸钠缓冲液透析,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。加入20 μl 0.2M pH9.6碳酸盐缓冲液,加入1ml 0.01M碳酸盐缓冲液含5mg抗体,室温2h。再加0.1ml新配4g/L NaBH₄,混匀,4 $^{\circ}\text{C}$ 2h。0.15M pH7.4 PBS透析4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。搅拌下逐滴加入等体积饱和硫酸铵,4 $^{\circ}\text{C}$ 1h。3000rpm离心0.5h,弃上清。沉淀物溶于1ml0.15M pH7.4PBS。0.15M pH7.4的PBS透析4 $^{\circ}\text{C}$ 4h,10,000rpm离心30min,上清液即为酶结合物,加入等量丙三醇,-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

根据本发明试剂盒制备方法中,所述制备辣根过氧化物酶标记的抗人IgG抗体,其稀释液配方为:0.05M pH值为7.2的磷酸盐缓冲液,15%新生牛血清。

配制完成后,应混匀,放置30分钟后用肉眼观察无晶体或沉淀析出,应采用电子pH计或中性pH试纸进行检验pH应控制在7.0-7.5之间,最佳pH为7.2。然后分装到适当体积的聚乙烯塑料瓶中。

将上述标记完成的辣根过氧化物酶标记抗人IgG抗体,用标记物稀释液进行1:

1000 ~ 1: 70,000 之间的一个适当稀释比例进行稀释。

根据本发明试剂盒制备方法中，所述制备辣根过氧化物酶标记的抗人 IgG 抗体为羊抗体或兔抗体。

F: 配制洗涤液

根据本发明试剂盒制备方法中洗涤液的配方为：0.01M pH 值为 7.2 的磷酸盐缓冲液，0.01%Tween20，2g/L KCl。

G: 配制化学发光底物液

化学发光底物液 A 液配方：

硼酸	11.4g
硼砂	4.9g
鲁米诺	1.7716g
4-羟基联苯	0.051g g
4-碘苯硼酸	0.012g
双蒸水定容	1000ml

化学发光底物液 B 液配方：

磷酸二氢钠 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	8.74 g
磷酸氢二钠 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	51.58 g
过氧化脲 ($\text{CH}_6\text{N}_2\text{O}_3$)	0.329g
Tween20	0.1ml

双蒸水定容

1000ml

最后组装上述各组份成为成品试剂盒。

综上，在本发明的研究过程中，本发明的发明人首先对所用的原材料进行了筛选实验和质量检定，包括抗原的纯度、标记抗体的活性、微孔板的吸附性能和变异大小、辣根过氧化物酶的活性、化学发光底物的发光强度及发光持续时间等。对于辣根过氧化物酶的标记可以有不同的方法，通过反复探索和对比实验最终找到了简便、产率高、成本低、质量可靠的标记方法。

本发明公开了基于上述摸索试验得到的各种试剂配方，包括：化学发光底物液配方、阴性对照品和阳性对照品的基质配方、样本稀释液配方、洗涤液的配方、辣根过氧化物酶标记物的稀释液配方。

利用本发明方法进行检测，灵敏度高，特异性强，操作简单，无放射性污染，试剂盒成本低，临床适用性强，可广泛应用于我国临床检测。

具体实施方式

实施例 1 谷氨酸脱羧酶抗体（GAD-Ab）化学发光免疫分析测定试剂盒发光底物液的制备

按照化学发光底物液 A 液配方：

硼酸	11.4g
硼砂	4.9g
鲁米诺	1.7716g
4-羟基联苯	0.051g
4-碘苯硼酸	0.012g

双蒸水定容 1000ml

配制完成后用聚乙烯塑料瓶，每瓶分装 10ml.

按照化学发光底物液 B 液配方：

磷酸二氢钠 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	8.74 g
磷酸氢二钠 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	51.58 g
过氧化脲 ($\text{CH}_6\text{N}_2\text{O}_3$)	0.329g
Tween20	0.1ml
双蒸水定容	1000ml

配制完成后用聚乙烯塑料瓶，每瓶分装 10ml.

实施例 2 谷氨酸脱羧酶抗体 (GAD-Ab) 化学发光免疫分析测定试剂盒阴性对照品的制备

根据本发明阴性对照品的配方：

三羟甲基氨基甲烷 (Tris)	6.06g
牛血清白蛋白 (BSA)	2g
水解明胶 (HG)	1g
0.1mol/L 盐酸 (HCL)	3.45ml
Proclin300	1ml
双蒸水定容	1000ml

配制完毕后，使用 3ml 容积的西林瓶，每瓶分装 2 ml，贴签后，-20℃冷冻保存。

实施例 3 谷氨酸脱羧酶抗体 (GAD-Ab) 化学发光免疫分析测定试剂盒阳性对照品的制备

根据本发明阳性对照品的配方：

三羟甲基氨基甲烷 (Tris)	6.06g
牛血清白蛋白 (BSA)	2g
水解明胶 (HG)	1g
0.1mol/L 盐酸 (HCL)	3.45ml
谷氨酸脱羧酶抗体 (GAD-Ab)	15mg
Proclin300	1ml
食品红	0.01ml
双蒸水定容	1000ml

配制完毕后，使用 3ml 容积的西林瓶，每瓶分装 2 ml，贴签后，-20℃冷冻保存。

实施例 4 谷氨酸脱羧酶抗体 (GAD-Ab) 化学发光免疫分析测定试剂盒包被微孔板的制备

取谷氨酸脱羧酶 (GAD) 浓原料 10mg, 使用 0.05M 磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲液将原料稀释到包被浓度 2 μg/ml, 摇匀, 取 96 孔微孔板, 每微孔中加入 120 μL, 4℃24h 后, 去离子水洗涤 2 次, 2%BSA 室温封闭 3h, 在温度 20-28℃及湿度

小于或等于 30%条件下 12h 后，用铝箔袋热封口封装。

实施例 5 谷氨酸脱羧酶抗体 (GAD-Ab) 化学发光免疫分析测定试剂盒样本稀释液的制备

配制用于稀释血清样本的样本稀释液，其配方为：

磷酸二氢钠 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	2.19 g
磷酸氢二钠 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	12.9 g
牛血清白蛋白 (BSA)	10g
Triton X100	3ml
去离子水定容	1000ml

配制完毕后，使用 10ml 容积的聚乙烯塑料瓶，每瓶分装 10 ml，贴签后， -20°C 冷冻保存。

实施例 6 谷氨酸脱羧酶抗体 (GAD-Ab) 化学发光免疫分析测定试剂盒酶标记物稀释液的制备

辣根过氧化物酶标记的抗人 IgG 抗体稀释液配方为：

磷酸二氢钠 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	2.19 g
磷酸氢二钠 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	12.9 g
新生牛血清	150ml
去离子水定容	1000ml

配制完成后，应混匀，放置 30 分钟后用肉眼观察无晶体或沉淀析出，应采用

电子 pH 计或中性 pH 试纸进行检验 pH 应控制在 7.0-7.5 之间，最佳 pH 为 7.2。

实施例 7 辣根过氧酶标记物最佳稀释比例的选择

采用平行试验法将辣根过氧化物酶标记抗体以不同稀释度进行对比，以最高信噪比大于 150，最低信噪比大于 5 为基准，优化选择成本最低的稀释比例。

将辣根过氧化物酶标记抗体以 1/1000、1/2000、1/4000、1/8000、1/16000、1/32000、1/64000 的不同稀释度，进行条件对比实验，发现满足最高信噪比大于 150，最低信噪比大于 5 的比例中，将辣根过氧化物酶标记抗体 1/32000 的比例所用成本最低。故选择这个稀释比例。

实施例 8 谷氨酸脱羧酶抗体 (GAD-Ab) 化学发光免疫分析测定试剂盒洗涤液的制备

根据洗涤液的配方进行配制：

磷酸二氢钠 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	1 g
磷酸氢二钠 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	1.28 g
氯化钾 (KCL)	2g
Tween20	0.1ml
去离子水定容	1000ml

配制完成后，应混匀，放置 30 分钟后用肉眼观察无晶体或沉淀析出，应采用电子 pH 计或中性 pH 试纸进行检验 pH 应控制在 7.0-7.5 之间，最佳 pH 为 7.2。

实施例 9 谷氨酸脱羧酶抗体 (GAD-Ab) 化学发光免疫分析测定试剂盒半成品及成品组成

上述实施例 1~8 所得产品分装即为半成品。将半成品在组装前抽检经过特异性、精密性、灵敏度及稳定性检定合格才能组装成谷氨酸脱羧酶抗体 (GAD-Ab) 化学发光免疫分析测定试剂盒, 按照标准操作规程进行组装成品, 并经过质量人员复核后记录、入库。

实施例 10 本发明的试剂盒的使用方法

一、实验前准备

- 1、蒸馏水或去离子水;
- 2、吸水纸: 用于板条冲洗后的拍干;
- 3、封口膜: 在反应过程中覆盖板条;
- 4、用于血清稀释的试管;
- 5、微量加样器, 带有 $10\ \mu\text{l}$ ~ $200\ \mu\text{l}$ 吸液 Tip 头;
- 6、微孔板冲洗机或冲洗瓶;
- 7、化学发光测量仪

二、标本采集

病人标本无需特殊处理, 采用常规医用技术收集全血标本, 离心分离后吸取血清用于检测。待测血清如在 24 小时之内使用, 可于 $2-8^{\circ}\text{C}$ 保存, 若需长期存放应保存在 -20°C 以下, 并避免反复冻溶。

三、使用本试剂盒实验的具体操作步骤如下:

- 1、首先, 根据试验需求设计好分布图, 然后将所需的微孔条固定于板架上, 编好顺序。
- 2、分别加入 $100\ \mu\text{l}$ 阴性对照品、阳性对照品和已稀释的血清样品于相应的孔中, 空白孔除外。
- 3、用封口膜将板条封好, 置 37°C 温育 1 小时。
- 4、每孔加入配制好的洗涤液 $200\sim 300\ \mu\text{l}$, 停留 30 秒, 甩干, 重复洗涤五次, 在

吸水纸上轻拍数下。在洗涤过程中应避免产生气泡。

- 5、每孔加入酶结合物 $100\ \mu\text{l}$ ，空白孔除外。
- 6、用封口膜或塑料胶条将板封好，置 37°C 温育 1 小时。
- 7、反应后，再次洗涤（同 4），拍干。
- 8、加发光底物 A 及 B 各 $50\ \mu\text{l}$ ，混匀，室温（ $20\sim 25^\circ\text{C}$ ）避光反应 5 分钟。立即在化学发光测量仪上依序测量各孔的发光强度（RLU），测量时间 1 秒/孔。

四、结果分析

从阴性、阳性对照品和样品孔的发光度值中减去空白孔发光度值。在阳性对照品/阴性对照品发光强度比值大于等于 10 时，将阴性对照品的发光强度 2.1 倍定为 CUTOFF 值。在 CUTOFF 值以上的样本即为阳性样本。

实施例 11 本发明的试剂盒的方法学检定

按照本领域中常规的制造及检定规程对通过实施例 1~8 中制备成的试剂盒进行检定：

1) 精密性

CV (%) 应小于 15.0% ($n = 10$)

2) 灵敏度

将已知浓度为 1500ng/ml 的标准品稀释到 $20\ \text{ng/ml}$ ，所测发光强度值应高于 CUTOFF 值。

3) 特异性

与 IAA 的交叉反应：浓度为 300U/ml 的 IAA 标准品，在本发明试剂盒中所测发光强度值应低于 CUTOFF 值。

与 ICA 的交叉反应：浓度为 100U/ml 的 ICA 标准品，在本发明试剂盒中所测发光强度值应低于 CUTOFF 值。

4) 稳定性

将试剂盒 37℃放置 7 天，测定结果应符合上述 1) ~ 3) 项要求。

实施例 12 本发明的试剂盒同国外 ELISA 试剂盒临床血样测值对比

使用本发明的试剂盒与国外 GAD-Ab 酶联免疫检测试剂盒同时检测 47 份 I 型糖尿病、29 份 II 型糖尿病人标本，两种试剂盒的比较结果见下表 1、表 2:

表 1 本试剂盒与国外试剂盒 I 型糖尿病测值对比结果

I 型糖尿病	国外酶免试剂盒的检测结果		合 计	
	+	-		
本试剂的检测结 果	+	30	0	30
	-	0	17	17
合计		30	17	47

表 2 本试剂盒与国外试剂盒 II 型糖尿病测值对比结果

II 型糖尿病	国外酶免试剂盒的检测结果		合 计	
	+	-		
本试剂的检测结 果	+	5	0	5
	-	0	24	24
合计		5	24	29

从两表所列检测结果数据分析，本发明试剂盒在 47 份 I 型糖尿病标本中检出 30 份阳性，阳性率为 63.8%；29 份 II 型糖尿病人检出 5 份阳性，阳性率为 17.2%。与国外 ELISA 试剂盒能够较好符合。

专利名称(译)	谷氨酸脱羧酶抗体化学发光免疫分析测定试剂盒及其制备方法		
公开(公告)号	CN101368957A	公开(公告)日	2009-02-18
申请号	CN200810105416.4	申请日	2008-04-29
[标]申请(专利权)人(译)	北京科美东雅生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	北京科美东雅生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	北京科美生物技术有限公司		
[标]发明人	王宏锐 应希堂 胡国茂 郑金来 唐宝军 于尚永		
发明人	王宏锐 应希堂 胡国茂 郑金来 唐宝军 于尚永		
IPC分类号	G01N33/573 G01N21/76 G01N33/535		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种谷氨酸脱羧酶抗体(GAD - Ab)化学发光免疫分析测定试剂盒及其制备方法。本发明试剂盒包括：GAD - Ab阴性、阳性对照品；包被微孔板；样本稀释液；辣根过氧化物酶标记物；洗涤液；化学发光底物液。根据本发明制备上述试剂盒的制备方法包括：制备GAD - Ab阴性、阳性对照品；制备谷氨酸脱羧酶(GAD)抗原包被的微孔板；配制样本稀释液；制备辣根过氧化物酶标记物；配制洗涤液、配制化学发光底物液等步骤。本发明试剂盒操作简单，无放射性污染，可广泛应用于临床检测。

I型糖尿病	国外酶免试剂盒的检测结果		合计	
	+	-		
本试剂的检测结果	+	30	0	30
	-	0	17	17
合计		30	17	47