



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108088989 A

(43)申请公布日 2018. 05. 29

(21)申请号 201711376227.6

(22)申请日 2017.12.19

(71)申请人 上海艾瑞德生物科技有限公司

地址 201114 上海市闵行区新骏环路188号
5号楼301室

(72)发明人 廖玲妮 陆亮

(74)专利代理机构 上海一平知识产权代理有限公司 31266

代理人 王正君 徐迅

(51)Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/68(2006.01)

权利要求书1页 说明书9页 附图3页

(54)发明名称

用于多项荧光免疫层析产品的通用型稀释液

(57)摘要

本发明提供了用于荧光免疫层析产品的通用型稀释液。具体地,本发明提供一种通用型稀释液,本发明的稀释液可应用于检测多项荧光免疫产品上。本发明所述的稀释液可配套使用于全自动干式免疫分析仪上,避免了使用不同稀释液切换液路所带来的高故障率的问题。

1. 一种用于荧光免疫层析产品的通用型稀释液,其特征在于,包括:

(a) 有机缓冲剂,所述有机缓冲剂的含量为10-200mmol/L,较佳地,10-100mmol/L,更佳地20-50mmol/L,以所述稀释液的总浓度计;

(b) 明胶或明胶水解物,所述明胶或明胶水解物的含量为0.1-100g/L,较佳地,1-50g/L,更佳地,5-30g/L,以所述稀释液的总浓度计;

(c) 多羟基化合物,所述多羟基化合物的含量为0.1-5g/L,较佳地,0.5-5g/L,更佳地,0.5-3g/L,以所述稀释液的总浓度计;

(d) 碱金属氯化物,所述碱金属氯化物的含量为10-500mmol/L,较佳地,10-300mmol/L,更佳地,150-300mmol/L,以所述稀释液的总浓度计;

(e) 糖类,所述糖类的含量为5-100g/L,较佳地,5-75g/L,更佳地,15-50g/L,以所述稀释液的总浓度计;

(f) 非离子表面活性剂,所述非离子表面活性剂的含量为0.2-50g/L,较佳地,0.2-30g/L,更佳地,0.5-10g/L,以所述稀释液的总浓度计;

(h) 两性离子表面活性剂,所述两性离子表面活性剂的含量为0.2-25g/L,较佳地,0.5-15g/L,更佳地,1-5g/L,以所述稀释液的总浓度计;

(g) 防腐剂,所述防腐剂的含量为2-50g/L,较佳地,2-25g/L,更佳地,5-10g/L,以所述稀释液的总浓度计。

2. 如权利要求1所述的通用型稀释液,其特征在于,所述有机缓冲剂选自下组:4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES)、哌嗪-1,4-二乙磺酸(PIPES)、二(2-羟乙基)三亚氨基(羟甲基)甲烷(Bis-tris)、或其组合。

3. 如权利要求1所述的通用型稀释液,其特征在于,所述明胶或明胶水解物选自下组:动物明胶、水解明胶蛋白、或其组合。

4. 如权利要求1所述的通用型稀释液,其特征在于,所述多羟基化合物选自下组:甘露醇、山梨醇、乙二醇、丙三醇、或其组合。

5. 如权利要求1所述的通用型稀释液,其特征在于,所述碱金属氯化物选自下组:氯化钾、氯化钠、或其组合。

6. 如权利要求1所述的通用型稀释液,其特征在于,所述糖类选自下组:蔗糖、海藻糖、或其组合。

7. 如权利要求1所述的通用型稀释液,其特征在于,所述非离子表面活性剂选自下组:聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯、聚氧乙烯失水山梨醇单月桂酸酯、或其组合。

8. 一种免疫分析方法,其特征在于,所述方法包括使用权利要求1所述的稀释液进行血液样品检测的步骤。

9. 一种检测试剂盒,其特征在于,所述试剂盒包含权利要求1所述的稀释液。

10. 如权利要求1所述的稀释液的用途,其特征在于,用于制备试剂盒,所述试剂盒用于检测血液样品。

用于多项荧光免疫层析产品的通用型稀释液

技术领域

[0001] 本发明涉及检测试剂领域,具体地,涉及一种用于多项荧光免疫层析产品的通用型稀释液。

背景技术

[0002] 全自动免疫干式分析仪因其操作简单,测试项目种类繁多,测试速度快等优点广泛用于临床检验中。由于干式免疫基于纸层析原理开发,没有清洗分离临床样本干扰物的步骤,其测试过程中的基质效应显著,一般而言,每个项目都有特定的缓冲配方来达到临床测试需求。而适用于多种样本如全血、血清、血浆、匹配多个测试项目、适用于干式免疫分析、可匹配全自动设备的缓冲配方鲜有报道。

[0003] 早前有报道用动物血清或血清蛋白以及其他类似的白蛋白,并添加一定量的盐、缓冲或乳化剂,以达到替代人血清,来稀释超过检测范围的临床样本。然而由于此类白蛋白往往由动物肝脏合成分泌到血液中,经体外提纯或加工而来,受动物宿主自身影响很大,遗传背景不清晰,造成实际使用过程中白蛋白性能差异大,并伴有病毒或微生物污染的风险。

[0004] 另有报道使用从牛奶提出的酪蛋白作为白蛋白的替代物,用于稀释液中。然而酪蛋白其疏水性较强,配置时发现酪蛋白很难溶于水中特别是弱酸性环境下,酪蛋白容易沉淀,造成溶液不稳定。使用酪蛋白盐粉末进行配制,虽然稳定性提高,但用于干式免疫分析中我们发现颗粒扩散性很差,且测试灵敏度也受其影响有所降低。

[0005] 因此,本领域迫切需要开发一种可用于多项干式免疫分析,兼顾全血、血清、血浆样本测试,不受抗凝剂限制的、不使用动物血清来源的蛋白的通用型稀释液。

发明内容

[0006] 本发明的目的在于提供一种可用于多项干式免疫分析,兼顾全血、血清、血浆样本测试,不受抗凝剂限制的、不使用动物血清来源的蛋白的通用型稀释液。

[0007] 本发明的第一方面提供了一种用于荧光免疫层析产品的通用型稀释液,包括:

[0008] (a) 有机缓冲剂,所述有机缓冲剂的含量为10-200mmol/L,较佳地,10-100mmol/L,更佳地20-50mmol/L,以所述稀释液的总浓度计;

[0009] (b) 明胶或明胶水解物,所述明胶或明胶水解物的含量为0.1-100g/L,较佳地,1-50g/L,更佳地,5-30g/L,以所述稀释液的总浓度计;

[0010] (c) 多羟基化合物,所述多羟基化合物的含量为0.1-5g/L,较佳地,0.5-5g/L,更佳地,0.5-3g/L,以所述稀释液的总浓度计;

[0011] (d) 碱金属氯化物,所述碱金属氯化物的含量为10-500mmol/L,较佳地,10-300mmol/L,更佳地,150-300mmol/L,以所述稀释液的总浓度计;

[0012] (e) 糖类,所述糖类的含量为5-100g/L,较佳地,5-75g/L,更佳地,15-50g/L,以所述稀释液的总浓度计;

[0013] (f) 非离子表面活性剂,所述非离子表面活性剂的含量为0.2-50g/L,较佳地,0.2-

30g/L,更佳地,0.5-10g/L,以所述稀释液的总浓度计;

[0014] (h)两性离子表面活性剂,所述两性离子表面活性剂的含量为0.2-25g/L,较佳地,0.5-15g/L,更佳地,1-5g/L,以所述稀释液的总浓度计;

[0015] (g)防腐剂,所述防腐剂的含量为2-50g/L,较佳地,2-25g/L,更佳地,5-10g/L,以所述稀释液的总浓度计。

[0016] 在另一优选例中,所述有机缓冲剂选自下组:4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES)、哌嗪-1,4-二乙磺酸(PIPES)、二(2-羟乙基)三亚氨基(羟甲基)甲烷(Bis-tris)、或其组合。

[0017] 在另一优选例中,所述明胶或明胶水解物选自下组:动物明胶、水解明胶蛋白、或其组合。

[0018] 在另一优选例中,所述明胶或明胶水解物的含量为0.01-10wt%,较佳地,0.1-5wt%,更佳地,0.5-3wt%,以所述稀释液的总重计。

[0019] 在另一优选例中,所述动物明胶选自下组:猪皮明胶、鱼皮明胶、猪骨胶原、牛皮胶原、或其组合。

[0020] 在另一优选例中,所述多羟基化合物选自下组:甘露醇、山梨醇、乙二醇、丙三醇、或其组合。

[0021] 在另一优选例中,所述多羟基化合物的含量为0.01-0.5wt%,较佳地,0.05-0.5wt%,更佳地,0.05-0.3wt%,以所述稀释液的总重计。

[0022] 在另一优选例中,所述碱金属氯化物选自下组:氯化钾、氯化钠、或其组合。

[0023] 在另一优选例中,所述糖类选自下组:蔗糖、海藻糖、或其组合。

[0024] 在另一优选例中,所述糖类的含量为0.5-10wt%,较佳地,0.5-7.5wt%,更佳地,1.5-5wt%,以所述稀释液的总重计。

[0025] 在另一优选例中,所述非离子表面活性剂选自下组:聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯、聚氧乙烯失水山梨醇单月桂酸酯、或其组合。

[0026] 在另一优选例中,所述两性表面活性剂选自下组:tetronic 1307、十二烷基磺基甜菜碱、椰油酰胺丙基甜菜碱、或其组合。

[0027] 在另一优选例中,所述非离子表面活性剂的含量为0.02-5wt%,较佳地,0.02-3wt%,更佳地,0.05-1wt%,以所述稀释液的总重计。

[0028] 在另一优选例中,所述两性表面活性剂的含量为0.02-2.5wt%,较佳地,0.05-1.5wt%,更佳地,0.1-0.5wt%,以所述稀释液的总重计。

[0029] 在另一优选例中,所述防腐剂选自下组:叠氮钠、异噻唑啉酮及其衍生物、庆大霉素、或其组合。

[0030] 在另一优选例中,所述防腐剂的含量为0.2-5wt%,较佳地,0.2-2.5wt%,更佳地,0.5-1wt%,以所述稀释液的总重计。

[0031] 在另一优选例中,所述的组合物是选自下组的形式:冲剂、粉剂、水剂、或其组合。

[0032] 在另一优选例中,所述稀释液具有以下的一种或多种特性:

[0033] (i) 不含有动物来源的血清蛋白或酪蛋白,可替代人血清稀释临床样本;

[0034] (ii) 稀释血清、血浆、全血等多种血液来源样本;

[0035] (iii) 不易腐蚀、不易起泡、稳定性好,配套全自动干式免疫分析仪使用;

[0036] (iv) 用于同时测定多个特定蛋白含量;

[0037] (v) 用于不同抗凝剂的血液样本。

[0038] 本发明第二方面提供了一种免疫分析方法,所述方法包括使用本发明第一方面所述的稀释液进行血液样品检测的步骤。

[0039] 在另一优选例中,所述血液样品包括全血样品、血清样品、和/或血浆样品。

[0040] 在另一优选例中,所述稀释液用于测定血液样品中的特定蛋白含量,所述特定蛋白为能与抗体发生特异性结合的蛋白。

[0041] 在另一优选例中,所述特定蛋白包括:血液中的心肌损伤或心肌梗死标志物。

[0042] 在另一优选例中,所述心肌损伤或心肌梗死标志物选自下组:肌钙蛋白I、肌红蛋白、肌酸激酶同工酶、或其组合。

[0043] 本发明第三方面提供了一种检测试剂盒,所述试剂盒包含本发明第一方面所述的稀释液。

[0044] 在另一优选例中,所述试剂盒还包括说明书和用于盛装所述稀释液的容器。

[0045] 本发明第四方面提供了如本发明第一方面所述的稀释液的用途,其特征在于,用于制备试剂盒,所述试剂盒用于检测血液样品。

[0046] 在另一优选例中,所述血液样品为荧光免疫产品。

[0047] 在另一优选例中,所述荧光免疫产品为荧光干式免疫产品。

[0048] 在另一优选例中,所述荧光免疫产品为干式免疫仪。

[0049] 在另一优选例中,所述荧光免疫产品为多项联检分析仪。

[0050] 在另一优选例中,所述荧光免疫产品为全自动干式免疫分析仪。

[0051] 在另一优选例中,所述试剂盒用于测定血液样品中的特定蛋白含量,所述特定蛋白为能与抗体发生特异性结合的蛋白。

[0052] 应理解,在本发明范围内中,本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合,从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅,在此不再一一累述。

附图说明

[0053] 图1中是4组不同的稀释液配方对同一低值样本进行的测试,反应结束后在干式免疫分析仪上扫描获得的结果,其结果判断包括整体基线、测试信号(左起信号峰1)、和质控信号(左起信号峰2)三块。图2中是4组不同的稀释液配方对同一阴性样本进行的测试,反应结束后在干式免疫分析仪上扫描获得的结果,其结果判断包括整体基线、测试信号(左起信号峰1)、和质控信号(左起信号峰2)三块。

[0054] 理想的稀释液应该具有较低的背景,较高的灵敏度,即整体基线较平、阴性样本无测试信号峰、低值样本有显著信号峰。

[0055] 其中对照例1沿用了现有技术即使用酪蛋白、缓冲液、乳化剂等作稀释液,很显然图1&2中都显示为基线不平,说明颗粒在试纸条上的扩散不好;对照例2沿用现有技术,使用血清蛋白、缓冲液、乳化剂等作稀释液,基线很平,说明颗粒扩散比较好,但基线略偏高,且低值样本中的测试信号(左起信号峰1)很不显著,说明该稀释液用于低值样本检测不具有灵敏度优势。实施例1和实施例2与对照例相比,背景(整体基线)较低、灵敏度较高,是更理想的稀释液。

[0056] 图3显示了使用实施例1&对照例2对25例肌钙蛋白的临床血浆样本进行测试的结果。其中,图3a为实施例1vs靶值;图3b为对比例2vs靶值。

[0057] 图4显示了收集EDTA抗凝全血、肝素钠抗凝全血、肝素锂抗凝全血、EDTA抗凝血浆、肝素钠抗凝血浆、肝素锂抗凝血浆、血清共七种阴性样本,不添加、添加肌钙蛋白配制成0.5ng/mL和10ng/mL的阳性样本,使用实施例1稀释液稀释后进行测试的结果。

[0058] 图5显示了收集EDTA抗凝全血、肝素钠抗凝全血、肝素锂抗凝全血、EDTA抗凝血浆、肝素钠抗凝血浆、肝素锂抗凝血浆、血清共七种阴性样本,不添加、添加肌钙蛋白配制成0.5ng/mL和10ng/mL的阳性样本,使用对比例2(对照例2)稀释液稀释后进行测试的结果。

具体实施方式

[0059] 本发明人经过长期而深入的研究,首次意外的开发了一种可用于多项荧光干式免疫检测的通用型稀释液。所述的稀释液不使用动物血清来源蛋白,兼顾不同类型的抗凝血浆及血清、全血样本,可作为多项联检的兼容性稀释液或全自动干式免疫分析仪的兼容性稀释液,此外,本发明的稀释液可精确检测血液中的心肌损伤或心肌梗死标志物(如肌钙蛋白I、肌红蛋白、肌酸激酶同工酶等)。在此基础上,本发明人完成了本发明。

[0060] 如本文所用,术语“靶值”指移除无关值后,参与的全部试剂反应的平均值。先按照分析仪的仪器类型对参加实验室进行分组,以各组的加权均值作为靶值。

[0061] 血液样品稀释液

[0062] 本发明的稀释液的成分主要包括:有机缓冲剂、明胶或明胶水解物、多羟基化合物、碱金属氯化物、糖类、表面活性剂、防腐剂。

[0063] 在本发明中,有机缓冲剂、明胶或明胶水解物、多羟基化合物、碱金属氯化物、糖类、表面活性剂、防腐剂没有特别限制。

[0064] 在一优选实施方式中,所述有机缓冲剂选自:4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES)、哌嗪-1,4-二乙磺酸(PIPES)、二(2-羟乙基)三亚氨基(羟甲基)甲烷(Bis-tris)、或其组合;所述明胶或明胶水解物选自下组:动物明胶(如猪皮明胶、鱼皮明胶、猪骨明胶、牛骨明胶、牛皮明胶等)、水解明胶蛋白、或其组合;所述多羟基化合物选自:甘露醇、山梨醇、乙二醇、丙三醇、或其组合;所述碱金属氯化物选自下组:氯化钾、氯化钠、或其组合。所述糖选自:蔗糖、海藻糖、或其组合;所述表面活性选自下组:非离子表面活性剂、两性表面活性剂、或其组合;所述非离子表面活性剂选自:聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯、聚氧乙烯失水山梨醇单月桂酸酯、或其组合;所述两性表面活性剂选自下组:tetronic 1307、十二烷基磺基甜菜碱、椰油酰胺丙基甜菜碱、或其组合。所述防腐剂选自:叠氮钠、异噻唑啉酮及其衍生物、庆大霉素、或其组合。

[0065] 在本发明中,所述明胶或明胶水解物的含量为所述明胶或明胶水解物的含量为0.01-10wt%,较佳地,0.1-5wt%,更佳地,0.5-3wt%,以所述稀释液的总重计。所述多羟基化合物的含量为0.01-0.5wt%,较佳地,0.05-0.5wt%,更佳地,0.05-0.3wt%,以所述稀释液的总重计。所述糖类的含量为0.5-10wt%,较佳地,0.5-7.5wt%,更佳地,1.5-5wt%,以所述稀释液的总重计。所述非离子表面活性剂的浓度为0.2-50g/L,较佳地,0.2-30g/L,更佳地,0.5-10g/L,以所述稀释液的总浓度计。所述非离子表面活性剂的含量为0.02-5wt%,较佳地,0.02-3wt%,更佳地,0.05-1wt%,以所述稀释液的总重计。所述两性表面活性剂的

浓度为0.2-25g/L,较佳地,0.5-15g/L,更佳地,1-5g/L,以所述稀释液的总浓度计。所述两性表面活性剂的含量为0.02-2.5wt%,较佳地,0.05-1.5wt%,更佳地,0.1-0.5wt%,以所述稀释液的总重计。所述防腐剂的含量为0.2-5wt%,较佳地,0.2-2.5wt%,更佳地,0.5-1wt%,以所述稀释液的总重计。本发明的稀释液不使用动物血清来源的蛋白,属于不易起泡、不易引起金属腐蚀的溶液,适合全自动设备使用,特别适合匹配全自动免疫分析仪作为液路中的系统溶液,避免了由于气泡引起的系统报警或液路偏差。

[0066] 此外,本发明的稀释液为通用型稀释液,可灵敏的检测血液样品(如荧光干式免疫产品)的心肌损伤或心肌梗死标志物(如肌钙蛋白I、肌红蛋白、肌酸激酶同工酶等)。

[0067] 此外,由于通用型稀释液不易起泡的性质,特别适合匹配全自动免疫分析仪作为液路中的系统溶液,避免了由于气泡引起的系统报警或液路偏差。

[0068] 同时本发明中提到的非离子表面活性剂也可以作为保护剂,在全自动设备液路中的金属表面形成一层致密吸附膜,升高金属腐蚀的化学能,从而降低不锈钢组件发生电化学腐蚀风险。

[0069] 本发明的稀释液与现有的稀释液存在以下区别:

[0070] 现有的稀释液检测的是血清样本或抗凝血浆样本,一般来说,不同抗凝剂对检测同项目同来源的样本存在较大差异性,如EDTA血浆检测值偏低而肝素血浆偏高;同时现有稀释液一般用于血细胞分类、血常规检验,而非用于全血样本免疫类检测(即特定蛋白的含量测定)。

[0071] 而本发明的稀释液专门用于检测全血、血清或者血浆样本中特定蛋白的含量测定,且经实验结果比较同源性样本,不同抗凝的血液样本一致性良好。

[0072] 现有的血液稀释剂中一般含有动物来源的血清蛋白或酪蛋白。前者由于其血清来源特性,往往背景不够清晰,且批间差异大,偶有发现在临床检测过程中存在假阴性或假阳性的情况;后者则表现出比较强的疏水特性,在干式免疫平台上不具有扩散性或迁移性优势。

[0073] 本发明的稀释液不采用动物来源的血清蛋白或者酪蛋白,经测试批次间稳定性更优,且临床检测中的假阴性假阳性结果有显著改善。

[0074] 现有的血液稀释剂一般不是专门为干式免疫分析仪平台,其起泡性能及对管道腐蚀性能往往未经测试或优化,本发明的稀释液是基于干式免疫分析仪平台开发,并经过长期大量的测试证明稀释液的起泡及腐蚀都是干式免疫分析仪可接受的。

[0075] 所述特定蛋白为能与抗体发生特异性结合的蛋白,包括:血液中的心肌损伤或心肌梗死的标志物(如肌钙蛋白I、肌红蛋白、肌酸激酶同工酶等)。

[0076] 本发明的稀释液的制备方法主要包括以下步骤:用天平依次称取一定量的有机缓冲剂、明胶或明胶水解物、多羟基化合物、碱金属氯化物、糖类、表面活性剂、防腐剂,依次加入900mL的去离子水中,待溶解充分后用NaOH调节pH值到目标值,定容至1L。

[0077] 本发明的主要优点包括:

[0078] (1) 本发明所述的稀释液为通用型稀释液,可配套使用于全自动干式免疫分析仪上,避免了在测试不同项目时使用不同稀释液引起液路切换所带来的高故障率的问题。

[0079] (2) 本发明所述的稀释液不使用动物血清来源的蛋白。

[0080] (3) 本发明所述的稀释液属于不易起泡、不易引起金属腐蚀的溶液,适合全自动设

备使用,不易产生由气泡引起的液路故障或测试不准确,或是金属接头的腐蚀。

[0081] (4) 本发明所述的稀释液不含有动物来源的血清蛋白或酪蛋白,可替代人血清稀释临床样本;

[0082] (5) 本发明的稀释液稀释血清、血浆、全血等多种血液来源样本;

[0083] (6) 本发明的稀释液不易腐蚀、不易起泡、稳定性好,配套全自动干式免疫分析仪使用;

[0084] (7) 本发明的稀释液可用于同时测定多个特定蛋白含量;

[0085] (8) 本发明的稀释液可用于不同抗凝剂的血液样本。

[0086] 此外,由于通用型稀释液不易起泡的性质,特别适合匹配全自动免疫分析仪作为液路中的系统溶液,避免了由于气泡引起的系统报警或液路偏差。

[0087] 同时本发明中提到的非离子表面活性剂也可以作为保护剂,在全自动设备液路中的金属表面形成一层致密吸附膜,升高金属腐蚀的化学能,从而降低不锈钢组件发生电化学腐蚀风险。

[0088] 下面结合具体实施例,进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而并不用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法,通常按照常规条件如Sambrook等人,分子克隆:实验室手册(New York:Cold Spring Harbor Laboratory Press,1989)中所述的条件,或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明,否则此处百分比为质量体积百分比,摩尔浓度指物质的量浓度。本发明中所涉及的实验材料如无特殊说明均可从市售渠道获得。

[0089] 实施例1稀释液1的制备

[0090] 用天平称取4.76克的HEPES粉末,溶于900毫升的去离子水中,充分搅拌后用1M NaOH将pH值调整到7.0。然后依次加入5克的明胶水解蛋白,5克Tween80活性剂,2克Tetronic 1307,1克甘露醇,11.69克氯化钠,50克海藻糖,5克Proclin 300,5克庆大霉素,并充分溶解,最终定容至1L,从而获得稀释液1。

[0091] 实施例2稀释液2的制备

[0092] 用天平称取12.3克的Bio-Tris粉末,溶于900毫升的去离子水中,充分搅拌后用1M HCl将pH值调整到6.5。然后依次加入15克的鱼皮明胶,10克Tween80活性剂,5克Tetronic 1307,3克山梨醇,8克氯化钠,0.2克氯化钾,25克蔗糖,5克Proclin 300,5克叠氮钠,并充分溶解,最终定容至1L,从而获得稀释液2。

[0093] 对比例1稀释液3的制备

[0094] 用天平称取50克TAPS,溶解于800毫升的去离子水中,依次加入23克酪蛋白、50克PVA、26克Brij35、30克氯化钠,并将pH调整到8.0,从而获得稀释液3。

[0095] 对比例2稀释液4的制备

[0096] 用天平称取14.4克磷酸氢二钠,2.4克磷酸二氢钾,2克氯化钾,80克氯化钠溶解于800毫升的去离子水中,并将pH值调整到7.4,依次加入90克BSA,3.5克氯化钠,6.5mg EDTA二钠,1克脂肪醇聚氧乙烯,0.4克叠氮钠,并充分溶解,最终定容至1L,从而获得稀释液4。

[0097] 实施例3

[0098] 使用实施例1、实施例2、对比例1、对比例2分别对应的各个稀释液对cTn-I荧光干式免疫项目进行测试,分别测试零值样本、低值样本,并对测试后的试剂条进行扫描。

[0099] 从图1和图2可以看出,实施例1和2的稀释液跑板效果比较好;对比例1的稀释液明显存在基线不平的现象,说明标识颗粒在膜上扩散有问题;对比例2的稀释液跑板性能不错,但是,目测其低值分辨率不如实施例1和2的稀释液。

[0100] 实施例4

[0101] 用通用型稀释液1和2测试肌钙蛋白I,灵敏度达到0.05ng/mL,线性范围0.05-30ng/mL;

[0102] 测试肌红蛋白,灵敏度达到6.25ng/mL,线性范围6.25-1600ng/mL;

[0103] 测试肌酸激酶同工酶,灵敏度达到0.5ng/mL,线性范围0.5-160ng/mL

[0104] 用对比例2的稀释液4测试肌钙蛋白I,灵敏度仅为0.2ng/mL,线性范围为0.2-20ng/mL;

[0105] 用对比例2的稀释液4测试肌红蛋白,灵敏度12.5ng/mL,线性范围为12.5-1600ng/mL;

[0106] 用对比例2的稀释液4测试肌酸同工酶,灵敏度能够达到0.2ng/mL,线性范围为0.2-160ng/mL;

[0107] 从上述结果来看,对比例2的稀释液4在测试肌酸同工酶项目时,虽然灵敏度及线性范围优于实施例1&2的稀释液1和2;但在肌钙蛋白I和肌红蛋白项目上与实施例1&2的稀释液1和2相比较,表现出线性范围及低值灵敏度的性能缺失,换言之对比例2的稀释液4对抗原抗体反应测试存在偏好性。综合判断,实施例1&2的稀释液1和2在多项目的通用性上优于对比例2的稀释液4。

[0108] 实施例5

[0109] 同时配制实施例1的稀释液1和对比例2的稀释液4,其中明胶水解蛋白和BSA各用三个批号,其他组分仅使用同一批配制溶液,测试实施例1和对比例2两种稀释液的批间精密度。结果如下表所示。

[0110]

肌钙蛋白I	实施例1			对比例2		
实施例1	批号1	批号2	批号3	批号1	批号2	批号3
0.5ng/mL	0.51	0.49	0.46	0.52	0.52	0.4
	0.55	0.51	0.53	0.58	0.44	0.48
	0.55	0.47	0.46	0.53	0.48	0.52
	0.54	0.53	0.46	0.47	0.42	0.4
	0.55	0.47	0.53	0.47	0.5	0.44
	0.51	0.46	0.45	0.6	0.44	0.57
	0.5	0.55	0.47	0.4	0.43	0.53
	0.53	0.53	0.5	0.6	0.55	0.48
	0.51	0.53	0.49	0.56	0.55	0.56
	0.5	0.52	0.53	0.47	0.52	0.42
批间CV	6.28%			12.36%		
肌钙蛋白I	实施例1			对比例2		
实施例1	批号1	批号2	批号3	批号1	批号2	批号3
10ng/mL	9.39	9.04	9.92	11.95	11.11	8.64
	9.63	10.13	9.43	11.2	10.27	8.49
	10.64	10.03	9.30	9.63	8.28	9.23
	10.73	9.55	9.63	11.37	8.65	9.37
	10.26	9.97	10.85	11.72	9.99	8.85
	9.25	9.34	9.49	10.16	8.86	8.59
	10.50	10.23	9.98	8.22	8.32	10.63
	10.60	9.74	10.48	9.78	11.02	11.69
	9.33	9.33	10.80	8.37	11.75	9.91
	10.35	10.45	9.46	9.81	10.17	8.35
批间CV	5.47%			12.53%		
肌红蛋白	实施例1			对比例2		
实施例1	批号1	批号2	批号3	批号1	批号2	批号3
40ng/mL	36.99	41.18	35.04	35.53	34.95	43.78
	43.25	35.48	44.55	47.82	33.51	49
	36.45	42.16	36.51	35.92	34.69	43.19
	37.36	40.06	39.96	43.78	42.48	31.53
	43.76	44.37	40.96	41.93	39.54	34.69
	35.3	42.23	44.37	41.31	38.82	43.8
	37.96	39.7	40.34	46.51	42.73	32.34
	35.02	42.3	43.97	40.27	44.39	49.83
	36.3	40.84	40.01	38.97	46.96	42.89
	38.43	35.05	43.44	42.54	43.36	32.66
批间CV	8.16%			12.77%		
肌钙蛋白I	实施例1			对比例2		
实施例1	批号1	批号2	批号3	批号1	批号2	批号3
800ng/mL	777.05	769.49	770.99	765.62	716.80	868.38
	884.55	819.10	792.31	874.97	702.71	822.49
	823.78	772.37	767.56	803.89	891.87	871.96
	793.88	894.24	832.14	710.55	806.98	763.05
	883.74	757.18	754.22	839.62	780.57	868.17
	887.14	797.62	836.52	707.50	775.27	712.44
	766.37	875.59	781.07	710.22	831.58	855.75
	828.33	755.62	854.53	756.28	707.94	760.25
	823.64	809.24	774.15	762.06	753.60	751.05
	811.32	788.00	828.28	835.08	741.72	721.26
批间CV	5.34%			7.74%		

[0111] 上述数据结果表明,对比例1使用的血清蛋白不同批号存在差异,并导致试剂测试时的精密度变差,而使用明胶水解蛋白的实施例1则表现出批间性能稳定的效果。

[0112] 实施例6

[0113] 通用型稀释液(稀释液1和2)开瓶1个月后,外观、pH值、电导率均没有明显变化。测试肌钙蛋白I、肌红蛋白、肌酸激酶同工酶三项目,其灵敏度、重复性、线性范围、准确度没有明显变化,因此,从上述可知,本发明的稀释液1和2的开瓶后1个月内性能不发生明显变化,即该稀释液可以在全自动设备上连续运转至少1个月不变质或不影响检测。

[0114] 实施例7

[0115] 通用型稀释液(稀释液1和2)分成两等份,分别置于4℃、室温条件下保存18个月,外观、pH值、电导率均没有明显变化。测试肌钙蛋白I、肌红蛋白、肌酸激酶同工酶三项目,其灵敏度、重复性、线性范围、准确度没有明显变化,从上述可知,本发明的稀释液具有常温稳定的特点,在实际生产与使用过程中,无需特殊的冷藏保存,至少可以保存18个月。

[0116] 实施例8

[0117] 收集EDTA抗凝全血、肝素钠抗凝全血、肝素锂抗凝全血、EDTA抗凝血浆、肝素钠抗凝血浆、肝素锂抗凝血浆、血清共七种阴性样本,不添加、添加肌钙蛋白配制成0.5ng/mL和10ng/mL的阳性样本,使用实施例1&对比例2的稀释液稀释后进行测试,测试结果如图4和图5所示。

[0118] 从图4和图5的测试结果可以看出,本发明的稀释液在不同样本类型及抗凝剂中表现较为一致,回收率在90-110%之间,稳定性较好,符合多种样本通用型测试的要求;而对比例2中则显示出了EDTA抗凝剂与其他样本类型测试结果存在一定的差异,EDTA抗凝样本结果偏低,大概在80%-95%之间。

[0119] 实施例9

[0120] 使用实施例1的稀释液1&对比例2的稀释液4对25例肌钙蛋白的临床血浆样本进行测试,结果如图3a和图3b所示。以第三方平台测试靶值为纵坐标,干式免疫分析仪测试结果为横坐标,线性回归,分析 $y=ax+b$ 中的a,b值及 r^2 值。其中,图3a为实施例1vs靶值;图3b为对比例2vs靶值。

[0121] 从图3(3a和3b)的结果可以看出,使用不同的稀释液会对临床测试造成较大影响,对比例测试组中一例样本值异常偏低,而实施例测试组中该例样本值测试正常,且整体线性回归较好,说明了本发明的稀释液在临床测试上更具有优势。

[0122] 实施例10

[0123] 挑选了3台干式免疫分析仪,连续不间断进行实施例1&实施例2的稀释液1和2的稳定性测试,累计测试量达到100000次以上,未发现因稀释液起泡引起了设备报错及测试中断问题,且液路系统中的不锈钢零件未发现锈蚀问题,因此,本发明的稀释液在干式免疫仪上性能良好。

[0124] 在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考,就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解,在阅读了本发明的上述讲授内容之后,本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改,这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

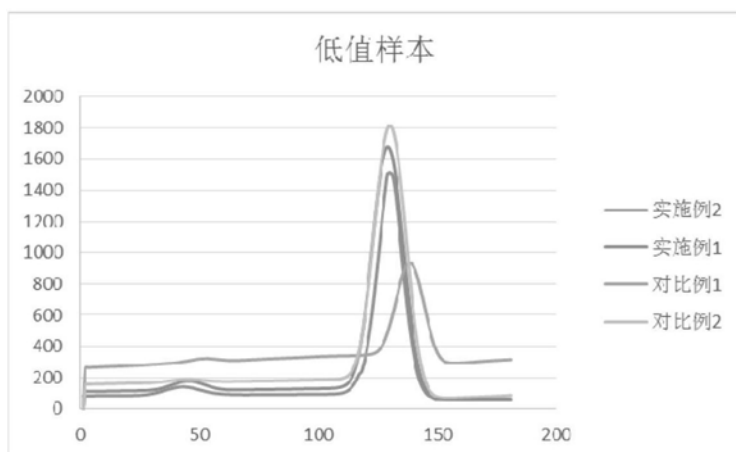


图1

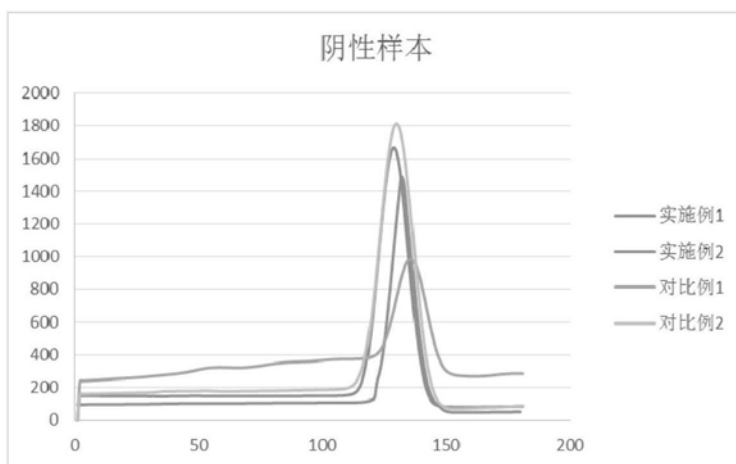


图2

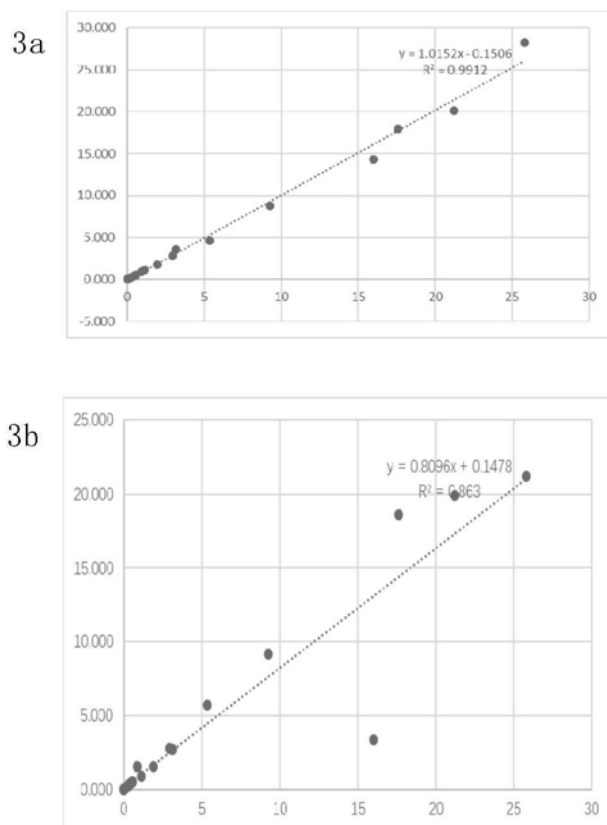


图3

实施例1							
样本类型	血清	血浆			全血		
抗凝剂	无	EDTA	肝素钠	肝素锂	EDTA	肝素钠	肝素锂
阴性样本	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
0.5ng/mL	0.52	0.48	0.51	0.47	0.52	0.45	0.53
回收率	104.00%	96.00%	102.00%	94.00%	104.00%	90.00%	106.00%
10ng/mL	9.36	10.49	10.05	10.60	9.01	9.76	10.42
回收率	93.6%	104.9%	100.5%	106.0%	90.1%	97.6%	104.2%

图4

对照例2							
样本类型	血清		血浆			全血	
抗凝剂	无	EDTA	肝素钠	肝素锂	EDTA	肝素钠	肝素锂
阴性样本	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
0.5ng/mL	0.55	0.44	0.51	0.58	0.40	0.57	0.52
回收率	110.00%	88.00%	102.00%	116.00%	80.00%	114.00%	104.00%
10ng/mL	10.92	9.36	10.26	10.04	9.14	10.74	11.36
回收率	109.2%	93.6%	102.6%	100.4%	91.4%	107.4%	113.6%

图5

专利名称(译)	用于多项荧光免疫层析产品的通用型稀释液		
公开(公告)号	CN108088989A	公开(公告)日	2018-05-29
申请号	CN201711376227.6	申请日	2017-12-19
[标]申请(专利权)人(译)	上海艾瑞德生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	上海艾瑞德生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	上海艾瑞德生物科技有限公司		
[标]发明人	廖玲妮 陆亮		
发明人	廖玲妮 陆亮		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/68		
代理人(译)	王正君 徐迅		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了用于荧光免疫层析产品的通用型稀释液。具体地，本发明提供一种通用型稀释液，本发明的稀释液可应用于检测多项荧光免疫产品上。本发明所述的稀释液可配套使用于全自动干式免疫分析仪上，避免了使用不同稀释液切换液路所带来的高故障率的问题。

胆钙蛋白I 实施例1	实施例1			对比例2		
	批号1	批号2	批号3	批号1	批号2	批号3
0.5ng/mL	0.51	0.49	0.48	0.52	0.53	0.4
	0.55	0.51	0.53	0.58	0.44	0.48
	0.55	0.47	0.46	0.53	0.48	0.52
	0.54	0.53	0.46	0.47	0.42	0.4
	0.55	0.47	0.53	0.47	0.5	0.44
	0.51	0.46	0.45	0.6	0.44	0.57
	0.5	0.55	0.47	0.4	0.43	0.53
	0.53	0.53	0.5	0.6	0.55	0.48
批间CV	6.28%			12.36%		
	0.51	0.52	0.53	0.47	0.52	0.42
胆钙蛋白I 实施例1	实施例1			对比例2		
	批号1	批号2	批号3	批号1	批号2	批号3
10ng/mL	9.39	9.04	9.92	11.95	11.11	8.64
	9.63	10.13	9.43	11.2	10.37	8.49
	10.64	10.03	9.30	9.63	8.28	9.23
	10.73	9.55	9.63	11.37	8.65	9.37
	10.56	9.97	10.85	11.72	9.99	8.85
	9.25	9.34	9.49	10.16	8.86	8.59
	10.50	10.33	9.98	8.22	8.32	10.63
	10.60	9.74	10.48	9.78	11.02	11.69
批间CV	5.47%			12.63%		
	9.33	9.33	10.89	8.37	11.75	9.91
40ng/mL	10.35	10.45	9.46	9.81	10.17	8.35
	36.99	41.18	35.04	35.53	34.95	43.78
	43.25	35.48	44.55	47.82	33.51	40
	36.45	42.16	36.51	35.92	34.69	43.19
	37.36	40.06	39.96	43.78	42.48	31.53
	43.76	44.37	40.96	41.93	39.64	34.69
	35.3	42.25	44.37	44.31	38.62	43.8
	37.96	39.7	40.34	46.51	42.73	32.34
批间CV	8.16%			12.77%		
	35.02	42.3	43.97	40.27	44.39	49.83
胆钙蛋白I 实施例1	实施例1			对比例2		
	批号1	批号2	批号3	批号1	批号2	批号3
800ng/mL	77.05	769.49	770.99	765.62	745.80	868.38
	884.55	819.10	792.31	874.97	792.71	822.49
	823.78	772.37	767.55	803.89	891.87	871.96
	793.88	894.24	832.14	710.55	806.98	763.05
	883.74	757.18	754.22	839.62	789.57	808.17
	857.14	797.55	836.55	707.50	775.27	712.44
	766.37	875.59	781.07	710.22	831.58	855.75
	828.33	755.52	854.53	786.28	707.94	760.25
批间CV	5.34%			7.74%		
	823.64	809.24	774.18	762.06	753.60	751.05
胆钙蛋白I 实施例1	811.32	788.00	828.28	835.08	741.72	721.26