



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 107490675 B

(45)授权公告日 2019.02.12

(21)申请号 201710678862.3

(22)申请日 2017.08.10

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 107490675 A

(43)申请公布日 2017.12.19

(73)专利权人 迈克生物股份有限公司

地址 611731 四川省成都市高新区百川路
16号

(72)发明人 耿英利 罗湘宇 甘萍萍 黎明
龙腾镶

(51)Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/68(2006.01)

(56)对比文件

CN 104237522 A, 2014.12.24, 说明书第
0007-0040、0196-0197段.

CN 1606452 A, 2005.04.13, 权利要求1、17-

18, 说明书第2页第4段、第4页第4段-第5页第5
段.

CN 103323596 A, 2013.09.25, 说明书第
0009-0040、0161-0163段.

CN 1537015 A, 2004.10.13, 全文.

WO 2005086647 A2, 2005.09.22, 全文.

US 2006269543 A1, 2006.11.30, 全文.

CN 103513038 A, 2014.01.15, 全文.

US 2017007689 A1, 2017.01.12, 全文.

Rajesh Krishnamurthy等.The Stability
Factor Importance in Formulation
Development.《Current Pharmaceutical
Biotechnology》.2002, 第3卷(第4期), 全文.

王世平等.微量免疫比浊法测定血清免疫球
蛋白、转铁蛋白和载脂蛋白含量.《中国运动医学
杂志》.2001, 第20卷(第4期), 全文.

审查员 张婷

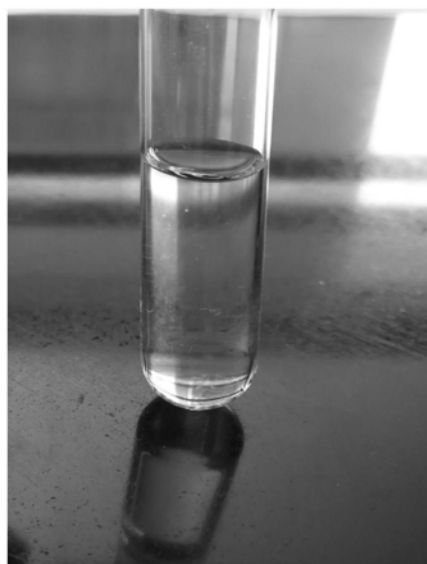
权利要求书2页 说明书11页 附图3页

(54)发明名称

一种免疫比浊试剂盒及检测方法

(57)摘要

本发明提供一种免疫比浊试剂盒,它包含试
剂R1和试剂R2,其中试剂R1中包含乙基苯基聚乙
二醇1-50g/L,试剂R2中包含乙基苯基聚乙二醇
1-50g/L、镁盐0.01-15g/L、醋酸钙0.01-20g/L和
抗体.本发明的试剂盒抗体性能好、重复性好、试
剂检测结果准确,能够满足使用要求.



1. 一种免疫比浊试剂盒,其特征在于:所述试剂盒包含试剂R1和试剂R2,所述试剂R1中包含乙基苯基聚乙二醇1-50g/L,所述试剂R2中包含乙基苯基聚乙二醇1-50g/L、硫酸镁0.01-15g/L、醋酸钙0.01-20g/L和抗体10-1000mg/L;其中所述试剂R1中还包含缓冲液、无机盐、防腐剂和聚集物,所述试剂R2中还包含缓冲液、无机盐和防腐剂;且其中

所述抗体为动物抗人抗体,

所述聚集物为聚乙二醇2000、聚乙二醇4000、聚乙二醇6000或聚乙二醇8000中的一种或几种,

试剂R2中所述无机盐为氯化钠、氯化钾中的一种或两种。

2. 根据权利要求1所述的免疫比浊试剂盒,其特征在于:所述乙基苯基聚乙二醇为5-40g/L。

3. 根据权利要求2所述的免疫比浊试剂盒,其特征在于:所述乙基苯基聚乙二醇为30g/L。

4. 根据权利要求1所述的免疫比浊试剂盒,其特征在于:所述硫酸镁为0.05-10g/L。

5. 根据权利要求4所述的免疫比浊试剂盒,其特征在于:所述硫酸镁为5g/L。

6. 根据权利要求1所述的免疫比浊试剂盒,其特征在于:所述醋酸钙为0.05-15g/L。

7. 根据权利要求6所述的免疫比浊试剂盒,其特征在于:所述醋酸钙为10g/L。

8. 根据权利要求1-7任一项所述的免疫比浊试剂盒,其特征在于:所述试剂R1中还包含缓冲液20-150mmol/L、无机盐1-30g/L、防腐剂0.5-1g/L和聚集物1-60g/L。

9. 根据权利要求1-7任一项所述的免疫比浊试剂盒,其特征在于:所述试剂R2中还包含缓冲液20-100mmol/L、无机盐1-30g/L和防腐剂0.5-1g/L,其中试剂R2中所述无机盐为氯化钠、氯化钾中的一种或两种。

10. 根据权利要求1所述的免疫比浊试剂盒,其特征在于:所述试剂盒包含校准品,所述校准品采用多点定标;所述校准品包含缓冲液20-100mmol/L、无机盐1-30g/L、防腐剂0.1-2g/L、葡聚糖0.3-100g/L、海藻糖1-100g/L、蔗糖1-100g/L、牛血清白蛋白1-100g/L和抗原。

11. 根据权利要求1所述的免疫比浊试剂盒,其特征在于:

所述抗体为羊抗人、兔抗人、马抗人、鼠抗人或其他动物抗人抗体;

所述缓冲液为醋酸盐缓冲液、氯化铵缓冲液、磷酸盐缓冲液、TRIS缓冲液、硼酸缓冲液、甘氨酸缓冲液、CAPSO、MOPS或Hepes缓冲液中的一种或几种;

所述无机盐为氯化钠、氯化钾中的一种或两种;

所述防腐剂为叠氮钠、苯酚、对羟基苯甲酸、对羟基苯甲酸乙酯或乙基汞硫代硫酸钠中的一种或几种;

所述聚集物为聚乙二醇2000、聚乙二醇4000、聚乙二醇6000或聚乙二醇8000中的一种或几种。

12. 根据权利要求1所述的免疫比浊试剂盒,其特征在于:所述试剂盒用于检测载脂蛋白A1、载脂蛋白B、免疫球蛋白A、免疫球蛋白G、免疫球蛋白M、补体C3、补体C4、载脂蛋白E、C-反应蛋白、视黄醇结合蛋白、类风湿因子、免疫球蛋白E、前白蛋白或脂蛋白a。

13. 一种利用权利要求1所述的免疫比浊试剂盒的检测方法,包括如下步骤:

(1) 向待测样品中加入试剂R1混匀,待测样品与试剂R1按体积比为(1-9):300加入,37℃孵育,在一定的波长下,读取吸光度A1;

(2) 向步骤(1)的混合液中加入试剂R2混匀,试剂R2与试剂R1按体积比为1:(1-6)加入,37℃孵育,在一定的波长下,读取吸光度A2;

(3) 得出吸光度 ΔA , $\Delta A = A2 - A1$;

(4) 使用校准品在全自动生化分析仪上通过内置曲线拟合模式拟合标准曲线,根据吸光度自动计算出待测样品中待测物质的含量。

一种免疫比浊试剂盒及检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及医学免疫体外诊断领域,具体涉及一种免疫比浊试剂盒及检测方法。

背景技术

[0002] 比浊法在临床检验工作中得到了广泛的应用。现在应用最普遍的是免疫比浊法。

[0003] 早期的免疫分析技术大部分都是通过观察沉淀物的形成、凝集及溶血现象的发生和测定由集合体造成的光散射来分析待测样品中特异性蛋白质的有无及含量,如免疫扩散、免疫电泳、直接及间接血凝、被动血凝、补体结合实验等,这些检测方法成本低、结果易于判断、技术上便于掌握,可广泛用于检测多种类型的临床样品。但由于上述方法操作繁琐,费时且灵敏度和精确度差而趋于被淘汰。

[0004] 免疫比浊法克服了上述缺点,并且能结合临床的需求而开发出定量精确的自动化仪器。因此,对于免疫学检测来说,免疫比浊法具有免疫学抗原、抗体结合的特异性,又具有生物化学反应学特点,可以在自动化生化仪上检测体液,特别是血液中的微量待测物质,是一种非常有应用前途的临床检验实用技术。

[0005] 免疫比浊法(Turbidimetric inhibition immuno assay)是抗原抗体结合动态测定方法。其基本原理是:当抗原与抗体在特殊稀释系统中反应而且比例合适(一般规定抗体过量)时,形成的可溶性免疫复合物在稀释系统中的促聚剂的作用下,自液相析出,形成微粒,使反应液出现浊度。当抗体浓度固定时,形成的免疫复合物的量随着检样中抗原量的增加而增加,反应液的浊度也随之增加。通过测定反应液的浊度与一系列标准品对照,即可计算出检样中抗原的含量。

[0006] 根据免疫比浊的基本原理而研制、开发的各种检测仪器已经广泛地应用在临床检验的许多方面,它是凝血仪光学法和免疫法的基本工作原理;是全自动生化测定中的载脂蛋白,半抗原及其他蛋白质的测定原理;同时它还可以应用于微生物检测。通过精确地对多种物质进行定量,对许多疾病的诊断、治疗及预后评估都有较大的临床意义。

[0007] 临床常用的免疫比浊法因其样本用量少,可直接在全自动生化分析仪上批量样本分析、操作简单,但目前建立的试剂及方法都存在一些缺点和不足,主要表现在:

[0008] 抗体在保存过程中很容易出现絮状或片状沉淀,导致抗体性能变差、重复性不好、变异系数(CV)变大,直接造成试剂检测结果不准确,而且增加过滤步骤,操作复杂,且过滤可能除去抗体,影响检测效果,对患者造成一定的影响,不能满足使用要求。

发明内容

[0009] 为解决上述问题,本发明公开了一种免疫比浊试剂盒及检测方法,试剂稳定性好、均一性好、检测结果准确性好、操作方便、便于推广应用。

[0010] 为实现上述发明目的,本发明提供以下技术方案:

[0011] 本发明提供了一种免疫比浊试剂盒,其中包含试剂R1和试剂R2,

[0012] 所述试剂R1中包含乙基苯基聚乙二醇1-50g/L,优选为5-40g/L,更优选为30g/L;

- [0013] 所述试剂R2中包含乙基苯基聚乙二醇1-50g/L,优选为5-40g/L,更优选为30g/L;
- [0014] 所述试剂R2中包含镁盐0.01-15g/L,优选为0.05-10g/L,更优选为5g/L;所述镁盐优选为硫酸镁、氯化镁或醋酸镁中的一种或多种。
- [0015] 所述试剂R2中包含醋酸钙0.01-20g/L,优选为0.05-15g/L,更优选为10g/L。
- [0016] 所述试剂R2中包含抗体10-1000mg/L。
- [0017] 其中,
- [0018] 所述试剂R1中还包含缓冲液、无机盐、防腐剂和聚集物;优选地,所述试剂R1中还包含缓冲液20-150mmol/L、无机盐1-30g/L、防腐剂0.5-1g/L和聚集物1-60g/L;
- [0019] 所述试剂R2中还包含缓冲液、无机盐、防腐剂;优选地,所述试剂R2中还包含缓冲液20-100mmol/L、无机盐1-30g/L、防腐剂0.5-1g/L。
- [0020] 所述试剂盒包含校准品,所述校准品采用多点定标;所述校准品包含缓冲液20-100mmol/L、无机盐1-30g/L,防腐剂0.1-2g/L,葡聚糖0.3-100g/L、海藻糖1-100g/L、蔗糖1-100g/L、牛血清白蛋白1-100g/L和抗原。
- [0021] 优选地,所述抗体为羊抗人、兔抗人、马抗人、鼠抗人或其他动物抗人抗体。
- [0022] 优选地,所述缓冲液为醋酸盐缓冲液、氯化铵缓冲液、磷酸盐缓冲液、TRIS缓冲液、硼酸缓冲液、甘氨酸缓冲液、CAPSO、MOPS或Hepes缓冲液中的一种或几种。
- [0023] 优选地,所述无机盐为氯化钠或氯化钾中的一种或两种。
- [0024] 优选地,所述防腐剂为叠氮钠、苯酚、对羟基苯甲酸、对羟基苯甲酸乙酯或乙基汞硫代硫酸钠中的一种或几种。
- [0025] 优选地,所述聚集物为聚乙二醇2000、聚乙二醇4000、聚乙二醇6000或聚乙二醇8000中的一种或几种。
- [0026] 其中,所述试剂盒用于检测载脂蛋白A1、载脂蛋白B、免疫球蛋白A、免疫球蛋白G、免疫球蛋白M、补体C3、补体C4、载脂蛋白E、C-反应蛋白、视黄醇结合蛋白、类风湿因子、免疫球蛋白E、前白蛋白或脂蛋白a。
- [0027] 本方面还提供了一种利用上述免疫比浊试剂盒的检测方法,包括如下步骤:
- [0028] (1) 向待测样品中加入试剂R1混匀,待测样品与试剂R1按体积比为(1-9):300加入,37℃孵育,在一定的波长下,读取吸光度A1;
- [0029] (2) 向步骤(1)的混合液中加入试剂R2混匀,试剂R2与试剂R1按体积比为1:(1-6)加入,37℃孵育,在一定的波长下,读取吸光度A2;
- [0030] (3) 得出吸光度 ΔA , $\Delta A = A2 - A1$;
- [0031] (4) 使用校准品在全自动生化分析仪上通过内置曲线拟合模式拟合标准曲线,根据吸光度自动计算出待测样品中待测物质的含量。
- [0032] 本发明中所指的聚集物是在反应中促进抗原抗体凝集的物质。
- [0033] 本发明提供的免疫比浊试剂盒及检测方法中涉及原料来源如下:

[0034]

原料	来源
TRIS 缓冲液	D609G9U031 ANGUS
磷酸二氢钠	广东光华科技股份有限公司 20161224 (20170601)
磷酸氢二钠	广东光华科技股份有限公司 20161224
甘氨酸缓冲液	上海天宇生物试剂有限公司 20170105
醋酸盐缓冲液(无水乙酸钠)	成都科隆化学制品有限公司 2016031601
MOPS 缓冲液	上海西宝生物科技有限公司 OP2012A

[0035]

Hepes 缓冲液	苏州市贝克生物科技有限公司 20170105
氯化钠	成都科隆化学制品有限公司 2017051001
氯化钾	Sigma BCBP6621V
氯化镁	Sigma BCBM9269V
叠氮钠	安徽郎溪县联科实业有限公司
苯酚	成都科隆化学制品有限公司
聚乙二醇 4000	广东光华科技股份有限公司
聚乙二醇 6000	广东光华科技股份有限公司 20170309
聚乙二醇 8000	广东光华科技股份有限公司
乙基苯基聚乙二醇	生工生物工程(上海)股份有限公司 D117BA0030
载脂蛋白 E (ApoE) 抗原	四川迈克生物新材料技术有限公司
C-反应蛋白抗原	四川迈克生物新材料技术有限公司
载脂蛋白 A1 抗原	四川迈克生物新材料技术有限公司
载脂蛋白 B 抗原	四川迈克生物新材料技术有限公司
羊抗人抗体	四川迈克生物新材料技术有限公司
视黄醇结合蛋白抗原	四川迈克生物新材料技术有限公司
硫酸镁	天津市科密欧化学试剂有限公司 20170110
醋酸钙	天津市科密欧化学试剂有限公司 20160710 (20170329)
羊抗人载脂蛋白 E 抗体	四川迈克生物新材料技术有限公司
羊抗人 C-反应蛋白抗体	四川迈克生物新材料技术有限公司
羊抗人载脂蛋白 A1 抗体	四川迈克生物新材料技术有限公司
羊抗人载脂蛋白 B 抗体	四川迈克生物新材料技术有限公司
兔抗羊抗体	四川迈克生物新材料技术有限公司
羊抗人视黄醇结合蛋白抗体	四川迈克生物新材料技术有限公司
吐温 20	温州清明化工有限公司 20170301
葡聚糖	上海西宝生物科技有限公司
海藻糖	AMRESCO
蔗糖	广东光华科技股份有限公司 20170505
牛血清白蛋白	AMRESCO

[0036] 由于采用了上述技术方案,本发明的有益效果是:

[0037] 本发明提供的免疫比浊试剂盒及检测方法,试剂稳定性好,均一性好,抗体可以稳定保存,不会出现沉淀现象,抗体效价高、性能好,而且没有过滤步骤,操作方便,成本低廉,检测结果准确,重复性好,具有更广泛的通用性。

附图说明

[0038] 图1展示了实施例5保存1个月结果。

[0039] 图2展示了实施例5保存3个月结果。

[0040] 图3展示了实施例5保存12个月结果。

[0041] 图4展示了实施例8保存1个月结果。

[0042] 图5展示了实施例8保存3个月结果

[0043] 图6展示了实施例8保存12个月结果。

[0044] 实施方式

[0045] 为了使本领域技术人员更好地理解本申请中的技术方案,下面结合实施例对本发明作进一步说明,显然,所描述的实施例仅仅是本申请一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本申请中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都应当属于本申请保护的范围。

[0046] 实施例1载脂蛋白E检测试剂盒

[0047] 试剂R1:

[0048]

TRIS缓冲液	20mmol/L
氯化钠	1g/L
叠氮钠	0.5g/L
聚乙二醇6000	1g/L
乙基苯基聚乙二醇	1g/L

[0049] 试剂R2:

[0050]

TRIS缓冲液	20mmol/L
氯化钠	1g/L
叠氮钠	0.5g/L
羊抗人载脂蛋白E抗体	10mg/L
乙基苯基聚乙二醇	1g/L
硫酸镁	0.01g/L
醋酸钙	0.01g/L

[0051] 校准品:

[0052] ApoE抗原用标准品稀释液(20mmol/L磷酸盐缓冲液、1g/L氯化钠、0.1g/L叠氮钠、0.3g/L葡聚糖、1g/L海藻糖、1g/L蔗糖、1g/L牛血清白蛋白)溶解,用市售对照试剂检测并调整至120mg/L,分装保存于-20℃。使用前取出,并用标准品稀释液稀释成不同浓度的ApoE标准品(ApoE抗原浓度:0mg/L、10mg/L、20mg/L、50mg/L、70mg/L)。然后用0.65μm的滤膜过滤除

菌,放置2~8℃保存。

[0053] 实施例2载脂蛋白A1检测试剂盒

[0054] 试剂R1:

[0055]

磷酸盐缓冲液	30mmol/L
氯化钾	5g/L
苯酚	0.7g/L
聚乙二醇6000	20g/L
乙基苯基聚乙二醇	50g/L

[0056] 试剂R2:

[0057]

磷酸盐缓冲液	40mmol/L
氯化钾	5g/L
苯酚	0.7g/L
羊抗人载脂蛋白A1抗体	50mg/L
乙基苯基聚乙二醇	50g/L
硫酸镁	15g/L
醋酸钙	20g/L

[0058] 校准品:

[0059] 载脂蛋白A1抗原用标准品稀释液(40mmol/L甘氨酸缓冲液、10g/L氯化钠、0.7g/L叠氮钠、20g/L葡聚糖、25g/L海藻糖、30g/L蔗糖、20g/L牛血清白蛋白)溶解,用市售对照试剂检测并调整至100mg/L,分装保存于-20℃。使用前取出,并用标准品稀释液稀释成不同浓度的载脂蛋白A1标准品(载脂蛋白A1抗原浓度:0mg/L、10mg/L、30mg/L、50mg/L、70mg/L)。然后用0.65μm的滤膜过滤除菌,放置2~8℃保存。

[0060] 实施例3C-反应蛋白检测试剂盒

[0061] 试剂R1:

[0062]

醋酸盐缓冲液	70mmol/L
氯化钾	15g/L
叠氮钠	0.8g/L
聚乙二醇6000	50g/L
乙基苯基聚乙二醇	5g/L

[0063] 试剂R2:

[0064]

醋酸盐缓冲液	80mmol/L
氯化钾	20g/L
叠氮钠	1g/L
羊抗人C-反应蛋白抗体	250mg/L
乙基苯基聚乙二醇	5g/L

硫酸镁	0.05g/L
醋酸钙	0.05g/L

[0065] 校准品：

[0066] C-反应蛋白抗原用标准品稀释液(80mmol/L TRIS缓冲液、20g/L氯化钠、1g/L叠氮钠、55g/L葡聚糖、50g/L海藻糖、60g/L蔗糖、70g/L牛血清白蛋白)溶解,用市售对照试剂检测并调整至200mg/L,分装保存于-20℃。使用前取出,并用标准品稀释液稀释成不同浓度的C-反应蛋白标准品(C-反应蛋白抗原浓度:2mg/L、10mg/L、40mg/L、60mg/L、80mg/L)。然后用0.65μm的滤膜过滤除菌,放置2~8℃保存。

[0067] 实施例4视黄醇结合蛋白检测试剂盒

[0068] 试剂R1：

[0069]

MOPS缓冲液	150mmol/L
氯化钠	30g/L
叠氮钠	1g/L
聚乙二醇6000	60g/L
乙基苯基聚乙二醇	40g/L

[0070] 试剂R2：

[0071]

MOPS缓冲液	100mmol/L
氯化钠	30g/L
叠氮钠	1g/L
羊抗人视黄醇结合蛋白抗体	500mg/L
乙基苯基聚乙二醇	40g/L
硫酸镁	10g/L
醋酸钙	15g/L

[0072] 校准品：

[0073] 视黄醇结合蛋白抗原用标准品稀释液(100mmol/L TRIS缓冲液、20g/L氯化钠、1g/L叠氮钠、10g/L葡聚糖、100g/L海藻糖、100g/L蔗糖、100g/L牛血清白蛋白)溶解,用市售对照试剂检测并调整至160mg/L,分装保存于-20℃。使用前取出,并用标准品稀释液稀释成不同浓度的视黄醇结合蛋白标准品(视黄醇结合蛋白抗原浓度:0mg/L、20mg/L、40mg/L、70mg/L、100mg/L)。然后用0.45μm的滤膜过滤除菌,放置2~8℃保存。

[0074] 实施例5类风湿因子(RF)检测试剂盒

[0075] 试剂R1：

[0076]

MOPS缓冲液	150mmol/L
氯化钠	30g/L
叠氮钠	1g/L
聚乙二醇6000	60g/L
乙基苯基聚乙二醇	30g/L

[0077] 试剂R2:

[0078]

MOPS缓冲液	100mmol/L
氯化钠	30g/L
叠氮钠	1g/L
羊抗人抗体	1000mg/L
乙基苯基聚乙二醇	30g/L
硫酸镁	5g/L
醋酸钙	10g/L

[0079] 校准品:

[0080] 兔抗羊抗体用标准品稀释液(100mmol/L TRIS缓冲液、30g/L氯化钠、2g/L叠氮钠、100g/L葡聚糖、100g/L海藻糖、100g/L蔗糖、100g/L牛血清白蛋白)溶解,用市售对照试剂检测并调整至120IU/mL,分装保存于-20℃。使用前取出,并用标准品稀释液稀释成不同浓度的兔抗羊抗体用标准品(兔抗羊抗体浓度:0IU/mL、20IU/mL、50IU/mL、80IU/mL、100IU/mL)。然后用0.65μm的滤膜过滤除菌,放置2~8℃保存。

[0081] 实施例6载脂蛋白E检测试剂盒

[0082] 试剂R1:

[0083]	TRIS 缓冲液	20mmol/L
	氯化钠	1g/L
	叠氮钠	0.5g/L
[0084]	聚乙二醇 6000	1g/L
	乙基苯基聚乙二醇	1g/L

[0085] 试剂R2:

[0086]

TRIS缓冲液	20mmol/L
氯化钠	1g/L
叠氮钠	0.5g/L
羊抗人载脂蛋白E抗体	10mg/L
乙基苯基聚乙二醇	1g/L
硫酸镁	0.01g/L

[0087] 校准品:

[0088] ApoE抗原用标准品稀释液(20mmol/L磷酸盐缓冲液、1g/L氯化钠、0.1g/L叠氮钠、0.3g/L葡聚糖、1g/L海藻糖、1g/L蔗糖、1g/L牛血清白蛋白)溶解,用市售对照试剂检测并调整至120mg/L,分装保存于-20℃。使用前取出,并用标准品稀释液稀释成不同浓度的ApoE标准品(ApoE抗原浓度:0mg/L、10mg/L、20mg/L、50mg/L、70mg/L)。然后用0.65μm的滤膜过滤除菌,放置2~8℃保存。

[0089] 实施例7载脂蛋白E检测试剂盒

[0090] 试剂R1:

[0091]

TRIS缓冲液	20mmol/L
氯化钠	1g/L
叠氮钠	0.5g/L
聚乙二醇6000	1g/L
乙基苯基聚乙二醇	1g/L

[0092] 试剂R2:

[0093]	TRIS 缓冲液	20mmol/L
	氯化钠	1g/L
	叠氮钠	0.5g/L
	羊抗人载脂蛋白 E 抗体	10mg/L
	乙基苯基聚乙二醇	1g/L

[0094]	醋酸钙	0.01g/L
--------	-----	---------

[0095] 校准品:

[0096] ApoE抗原用标准品稀释液 (20mmol/L磷酸盐缓冲液、1g/L氯化钠、0.1g/L叠氮钠、0.3g/L葡聚糖、1g/L海藻糖、1g/L蔗糖、1g/L牛血清白蛋白) 溶解,用市售对照试剂检测并调整至120mg/L,分装保存于-20℃。使用前取出,并用标准品稀释液稀释成不同浓度的ApoE标准品 (ApoE抗原浓度:0mg/L、10mg/L、20mg/L、50mg/L、70mg/L)。然后用0.65μm的滤膜过滤除菌,放置2~8℃保存。

[0097] 实施例8载脂蛋白E检测试剂盒

[0098] 试剂R1:

[0099]

TRIS缓冲液	20mmol/L
氯化钠	1g/L
叠氮钠	0.5g/L
聚乙二醇6000	1g/L
吐温20	1g/L

[0100] 试剂R2:

[0101]

TRIS缓冲液	20mmol/L
氯化钠	1g/L
叠氮钠	0.5g/L
羊抗人载脂蛋白E抗体	10mg/L
吐温20	1g/L

[0102] 校准品:

[0103] ApoE抗原用标准品稀释液 (20mmol/L磷酸盐缓冲液、1g/L氯化钠、0.1g/L叠氮钠、

0.3g/L葡聚糖、1g/L海藻糖、1g/L蔗糖、1g/L牛血清白蛋白)溶解,用市售对照试剂检测并调整至120mg/L,分装保存于-20℃。使用前取出,并用标准品稀释液稀释成不同浓度的ApoE标准品(ApoE抗原浓度:0mg/L、10mg/L、20mg/L、50mg/L、70mg/L)。然后用0.65μm的滤膜过滤除菌,放置2~8℃保存。不同实施例检测结果比较,其中CV值=STDEV(1-7)/均值。

[0104] 1.配制一份载脂蛋白E浓度为40mg/L的样本,用实施例1的试剂盒对样本重复检测7次,检测结果如表1所示。

[0105] 表1:2-8℃保存1个月、3个月、12个月测定结果

[0106]

次数 时间	1	2	3	4	5	6	7	均值	CV
1个月	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	0.00%
3个月	40.00	39.00	39.70	39.68	40.01	40.10	40.23	39.82	1.04%
12个月	40.11	39.98	39.71	38.28	38.99	40.01	40.12	39.60	1.78%

[0107] 由表1可见,实施例1在1个月、3个月、12个月测得的载脂蛋白E浓度均接近真实值,并且测得的变异系数(CV值))均小于2%,说明本发明的试剂盒重复性好、性能稳定,测量准确。

[0108] 2.配制一份载脂蛋白A1浓度为1mg/L的样本,用实施例2的试剂盒对样本重复检测7次,检测结果如表2所示。

[0109] 表2:2-8℃保存1个月、3个月、12个月测定结果

[0110]

次数 时间	1	2	3	4	5	6	7	均值	CV
1个月	1.00	1.00	1.00	1.00	1.01	1.00	1.01	1.00	0.49%
3个月	1.00	1.00	0.97	0.98	1.00	1.00	1.00	0.99	1.26%
12个月	1.00	1.00	0.98	1.00	0.97	0.95	0.99	0.98	1.93%

[0111] 由表2可见,实施例2在1个月、3个月、12个月测得的载脂蛋白A1浓度均接近真实值,并且测得的变异系数均小于2%,说明本发明的试剂盒重复性好、性能稳定,测量准确。

[0112] 3.配制一份C-反应蛋白浓度为25mg/L的样本,用实施例3的试剂盒对样本重复检测7次,检测结果如表3所示。

[0113] 表3:2-8℃保存1个月、3个月、12个月测定结果

[0114]

次数 时间	1	2	3	4	5	6	7	均值	CV
1个月	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00	0.00%
3个月	25.00	25.53	24.99	25.25	25.02	24.94	24.85	25.08	0.92%
12个月	25.00	24.92	25.11	25.52	25.21	24.75	25.21	25.10	0.98%

[0115] 由表3可见,实施例3在1个月、3个月、12个月测得的C-反应蛋白浓度均接近真实值,并且测得的变异系数均小于1%,说明本发明的试剂盒重复性好、性能稳定,测量准确。

[0116] 4. 配制一份视黄醇结合蛋白浓度为70mg/L的样本,用实施例4的试剂盒对样本重复检测7次,检测结果如表4所示。

[0117] 表4:2-8℃保存1个月、3个月、12个月测定结果

[0118]

次数 时间	1	2	3	4	5	6	7	均值	CV
1 个月	70.00	70.12	70.00	69.94	70.41	70.66	71.23	70.34	0.67%
3 个月	70.00	70.69	71.01	70.56	69.86	69.23	69.91	70.18	0.86%
12 个月	68.98	68.83	68.77	70.00	70.02	70.13	70.32	69.58	0.98%

[0119] 由表4可见,实施例4在1个月、3个月、12个月测得的视黄醇结合蛋白浓度均接近真实值,并且测得的变异系数均小于1%,说明本发明的试剂盒重复性好、性能稳定,测量准确。

[0120] 5. 配制一份类风湿因子浓度为25IU/mL的样本,用实施例5的试剂盒对样本重复检测7次,检测结果如表5所示。

[0121] 表5:2-8℃保存1个月、3个月、12个月测定结果

[0122]

次数 时间	1	2	3	4	5	6	7	均值	CV
1 个月	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00	0.00%
3 个月	25.00	25.00	25.00	25.01	25.00	25.00	25.00	25.00	0.02%
12 个月	25.00	25.00	25.01	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00	0.02%

[0123] 由表5可见,实施例5在1个月、3个月、12个月测得的类风湿因子浓度均为真实值,并且测得的变异系数均小于0.05%,说明本发明的试剂盒重复性好、性能稳定,测量准确。

[0124] 6. 配制一份载脂蛋白E浓度为40mg/L的样本,用实施例6的试剂盒对样本重复检测7次,检测结果如表6所示。

[0125] 表6:2-8℃保存1个月、3个月、12个月测定结果

[0126]

次数 时间	1	2	3	4	5	6	7	均值	CV
1 个月	41.12	41.22	38.99	44.25	40.83	39.85	42.45	41.24	4.16%
3 个月	33.81	38.64	36.12	38.12	36.56	37.49	37.27	36.86	4.33%
12 个月	42.21	37.13	40.66	37.26	39.13	38.68	40.02	39.30	4.66%

[0127] 由表6可见,实施例6在1个月、3个月、12个月测得的载脂蛋白E浓度均偏离真实值,并且测得的变异系数均大于4%,说明该试剂盒重复性不好、性能不稳定,测量不准确。

[0128] 7. 配制一份载脂蛋白E浓度为40mg/L的样本,用实施例7的试剂盒对样本重复检测7次,检测结果如表7所示。

[0129] 表7:2-8℃保存1个月、3个月、12个月测定结果

[0130]

次数 时间	1	2	3	4	5	6	7	均值	CV
1 个月	40.15	40.22	38.97	40.18	42.46	38.87	43.27	40.59	4.12%
3 个月	33.81	38.65	36.11	37.12	37.57	37.42	37.24	36.85	4.16%
12 个月	41.07	37.22	41.57	37.25	39.05	38.86	39.24	39.18	4.29%

[0131] 由表7可见,实施例7在1个月、3个月、12个月测得的载脂蛋白E浓度均偏离真实值,并且测得的变异系数均大于4%,说明该试剂盒重复性不好、性能不稳定,测量不准确。

[0132] 8. 配制一份载脂蛋白E浓度为40mg/L的样本,用实施例8的试剂盒对样本重复检测7次,检测结果如表8所示。

[0133] 表8:2-8℃保存1个月、3个月、12个月测定结果

[0134]

次数 时间	1	2	3	4	5	6	7	均值	CV
1 个月	39.81	38.49	37.98	42.67	42.53	42.47	42.47	40.92	5.11%
3 个月	39.56	42.15	39.85	37.56	40.12	35.15	39.58	39.14	5.65%
12 个月	42.15	37.27	41.78	38.26	42.35	39.12	37.41	39.76	5.71%

[0135] 由表8可见,实施例8在1个月、3个月、12个月测得的载脂蛋白E浓度均偏离真实值,并且测得的变异系数均大于5%,说明该试剂盒重复性不好、性能不稳定,测量不准确。

[0136] 应该理解到披露的本发明不仅仅限于描述的特定的方法、方案和物质,因为这些均可变化。还应理解这里所用的术语仅仅是为了描述特定的实施方式方案的目的,而不是意欲限制本发明的范围,本发明的范围仅受限于所附的权利要求。

[0137] 本领域的技术人员还将认识到,或者能够确认使用不超过常规实验,在本文所述的本发明的具体的实施方案的许多等价物。这些等价物也包含在所附的权利要求中。



图1

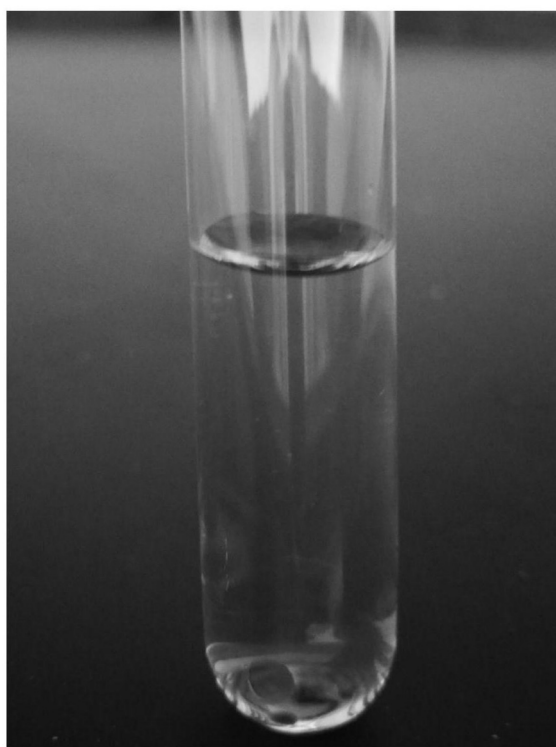


图2

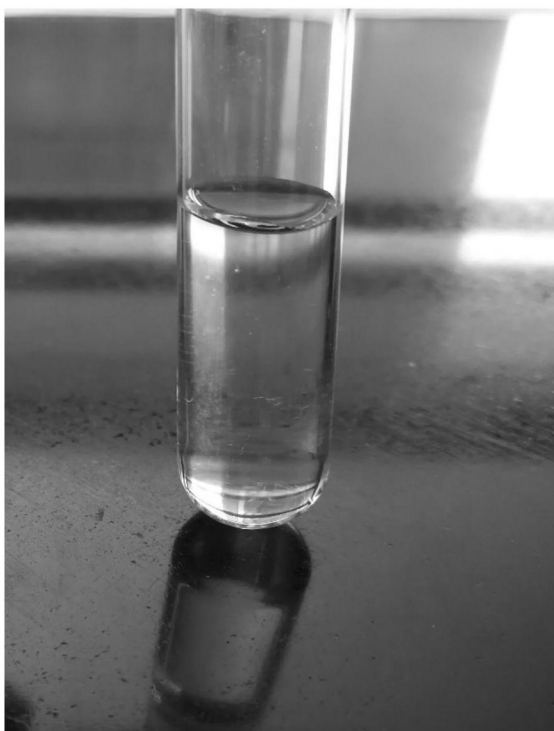


图3

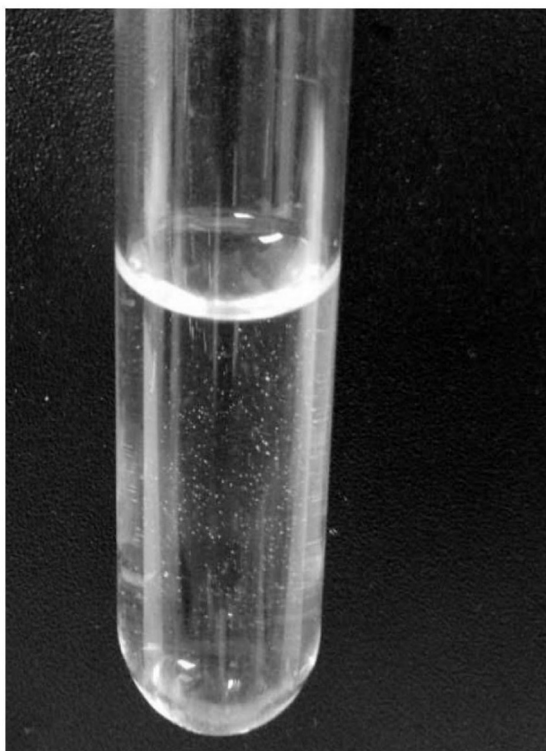


图4

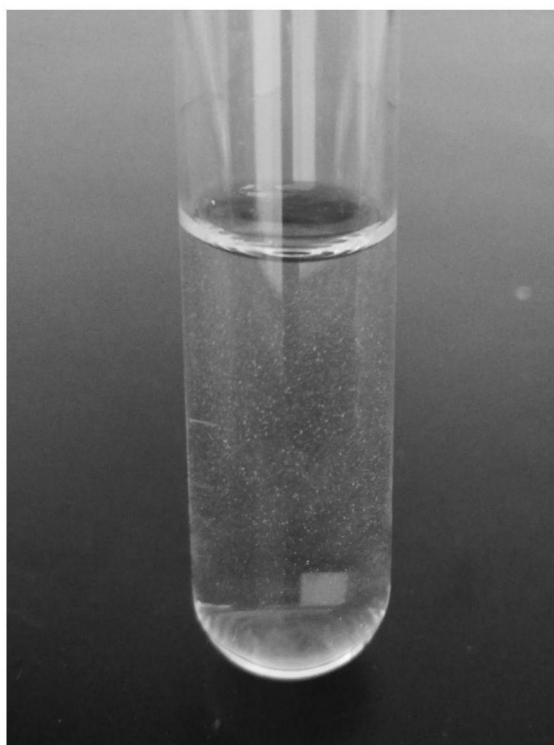


图5

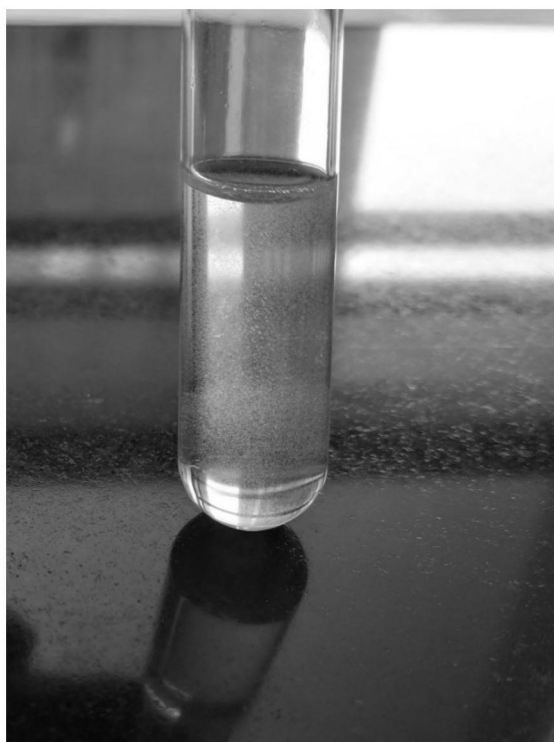


图6

专利名称(译)	一种免疫比浊试剂盒及检测方法		
公开(公告)号	CN107490675B	公开(公告)日	2019-02-12
申请号	CN2017110678862.3	申请日	2017-08-10
[标]发明人	耿英利 罗湘宇 甘萍萍 黎明 龙腾镶		
发明人	耿英利 罗湘宇 甘萍萍 黎明 龙腾镶		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/68		
CPC分类号	G01N33/53 G01N33/6803 G01N33/6854		
审查员(译)	张婷		
其他公开文献	CN107490675A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供一种免疫比浊试剂盒，它包含试剂R1和试剂R2，其中试剂R1中包含乙基苯基聚乙二醇1-50g/L，试剂R2中包含乙基苯基聚乙二醇1-50g/L、镁盐0.01-15g/L、醋酸钙0.01-20g/L和抗体。本发明的试剂盒抗体性能好、重复性好、试剂检测结果准确，能够满足使用要求。

