



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107966559 A

(43)申请公布日 2018.04.27

(21)申请号 201610912591.9

(22)申请日 2016.10.20

(71)申请人 上海透景诊断科技有限公司

地址 201400 上海市奉贤区正琅路19号4幢
1004室

(72)发明人 石旭 蔡勇华 姚见儿

(74)专利代理机构 上海唯源专利代理有限公司
31229

代理人 曾耀先

(51)Int.Cl.

G01N 33/533(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

权利要求书2页 说明书9页

(54)发明名称

用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液及其制备方法和应用

(57)摘要

本发明提供一种用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液,每升用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液包括:磷酸二氢钠6.0g~12.0g、磷酸氢二钠7.1g~14.2g、氯化钠.9g~5.8g、乙二酸四乙酸二钠18.6g~37.2g、吐温-20 1mL~5mL、曲拉通X-100 1mL~5mL、海藻糖5.0g~50.0g、叠氮化钠0.1g~0.5g、胆固醇酯酶0.1mg~0.8mg、磷脂酶A2 0.02mg~0.1mg和小牛血清300mL~450mL,余量为水。本发明还提供了相关制备方法和应用。本发明的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液能够减少SAA和HDL形成复合物,排除因SAA和HDL形成复合物对检测的不利,增加免疫反应速度,提高检测灵敏度,拓宽检测的线性范围,且设计巧妙,配制简便,成本低廉,适于大规模推广应用。

1. 一种用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液,其特征在于,每升所述的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液包括:

磷酸二氢钠	6.0 g ~ 12.0 g;
磷酸氢二钠	7.1 g ~ 14.2 g;
氯化钠	2.9 g ~ 5.8 g;
乙二酸四乙酸二钠	18.6 g ~ 37.2 g;
吐温-20	1 mL ~ 5 mL;
曲拉通X-100	1 mL ~ 5 mL;
海藻糖	5.0 g ~ 50.0 g;
叠氮化钠	0.1 g ~ 0.5 g;
胆固醇酯酶	0.1 mg ~ 0.8 mg;
磷脂酶A2	0.02 mg ~ 0.1 mg; 和
小牛血清	300 mL ~ 450 mL;
余量为水。	

2. 如权利要求1所述的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液,其特征在于,所述磷酸二氢钠为6.0g,所述磷酸氢二钠为7.1g,所述氯化钠为2.9g,所述乙二酸四乙酸二钠为18.6g,所述吐温-20为1mL,所述曲拉通X-100为1mL,所述海藻糖为5.0g,所述叠氮化钠为0.1g,所述胆固醇酯酶为0.1mg,所述磷脂酶A2为0.02mg,所述小牛血清为300mL。

3. 如权利要求1所述的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液,其特征在于,所述磷酸二氢钠为12.0g,所述磷酸氢二钠为14.2g,所述氯化钠为5.8g,所述乙二酸四乙酸二钠为37.2g,所述吐温-20为5mL,所述曲拉通X-100为5mL,所述海藻糖为50.0g,所述叠氮化钠为0.5g,所述胆固醇酯酶为0.8mg,所述磷脂酶A2为0.1mg,所述小牛血清为450mL。

4. 如权利要求1所述的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液,其特征在于,所述磷酸二氢钠为8.4g,所述磷酸氢二钠为9.94g,所述氯化钠为4.06g,所述乙二酸四乙酸二钠为26.04g,所述吐温-20为4mL,所述曲拉通X-100为3mL,所述海藻糖为25.0g,所述叠氮化钠为0.4g,所述胆固醇酯酶为0.6mg,所述磷脂酶A2为0.05mg,所述小牛血清为400mL。

5. 一种用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液的制备方法,其特征在于,所述的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液是根据权利要求1所述的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液,所述的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液的制备方法包括步骤:将所述磷酸二氢钠、所述磷酸氢二钠、所述氯化钠、所述乙二酸四乙酸二钠、所述吐温-20、所述曲拉通X-100、所述海藻糖、所述叠氮化钠、所述胆固醇酯酶、所述磷脂酶A2、所述小牛血清和所述水搅拌溶解混合均匀。

6. 根据权利要求1-4任一项所述的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液或根据权利要求5所述的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液的制备方法制备的用于

血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液在血清淀粉样蛋白A免疫检测中的应用。

用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及免疫检测技术领域,特别涉及血清淀粉样蛋白A免疫检测技术领域,具体是指一种用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液及其制备方法和应用。

背景技术

[0002] 血清淀粉样蛋白A (serum amyloid A, SAA) 是一类多基因编码的多形态蛋白家族。目前,细菌、病毒感染、动脉粥样硬化、冠心病、急性移植排斥反应、肿瘤等疾病中均检测到血清SAA升高。一些疾病,如病毒感染、移植排斥反应、冠心病等,SAA的敏感性高于CRP,可为临床提供更好的参考价值。作为一个新的检测指标,SAA正受到人们越来越多的关注。

[0003] SAA拥有载脂蛋白的全部特性。在生理状态下,高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 的载脂蛋白主要是ApoA-1,炎症反应时SAA可取替ApoA-1,作为HDL尤其是HDL3的主要载脂蛋白。HDL的密度一般为 $1.063 \sim 1.21 \text{g/cm}^3$,颗粒直径约为 $5 \sim 15 \text{nm}$,主要组成(干重)为蛋白质50%、胆固醇3%、胆固醇酯17%、磷脂27%和三酰甘油3%。SAA进入循环后与HDL形成复合物,SAA-HDL与肝细胞结合的能力降低,而与巨噬细胞的结合位点增加,可以加速循环中HDL的清除。SAA的降解要快于ApoA-1、ApoA-11,分解途径不同于其它与HDL结合的蛋白。

[0004] 正常人血清SAA值为 $0 \sim 5 \text{mg/L}$ 。当机体受到各种炎症因素刺激时,反应极快, $6 \sim 8 \text{h}$ 内即可达到峰值,增高幅度可达正常值的1000倍。

[0005] 目前,对SAA的免疫检测技术中,SAA和HDL形成复合物会影响抗体对SAA的免疫结合,限制SAA免疫检测的灵敏度和线性范围。

[0006] 因此,需要提供一种用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液,其能够减少SAA和HDL形成复合物,排除因SAA和HDL形成复合物对检测的不利,增加免疫反应速度,提高检测灵敏度,拓宽检测的线性范围。

发明内容

[0007] 为了克服上述现有技术中的缺点,本发明的一个目的在于提供一种用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液,其能够减少SAA和HDL形成复合物,排除因SAA和HDL形成复合物对检测的不利,增加免疫反应速度,提高检测灵敏度,拓宽检测的线性范围,适于大规模推广应用。

[0008] 本发明的另一目的在于提供一种用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液,其设计巧妙,配制简便,成本低廉,适于大规模推广应用。

[0009] 本发明的另一目的在于提供一种用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液的制备方法,制备的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液能够减少SAA和HDL形成复合物,排除因SAA和HDL形成复合物对检测的不利,增加免疫反应速度,提高检测灵敏度,拓宽检测的线性范围,适于大规模推广应用。

[0010] 本发明的另一目的在于提供一种用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液的制备方法,其设计巧妙,操作简便,适于大规模推广应用。

[0011] 本发明的另一目的在于提供一种用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液的应用,用于减少SAA和HDL形成复合物,排除因SAA和HDL形成复合物对检测的不利,增加免疫反应速度,提高检测灵敏度,拓宽检测的线性范围,适于大规模推广应用。

[0012] 本发明的另一目的在于提供一种用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液的应用,其设计巧妙,使用简便,适于大规模推广应用。

[0013] 为达到以上目的,在本发明的第一方面,提供一种用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液,其特点是,每升所述的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液包括:

[0014]	磷酸二氢钠	6.0 g~12.0 g;
	磷酸氢二钠	7.1 g~14.2 g;
	氯化钠	2.9 g~5.8 g;
	乙二酸四乙酸二钠	18.6 g~37.2 g;
	吐温-20	1 mL~5 mL;
	曲拉通 X-100	1 mL~5 mL;
	海藻糖	5.0 g~50.0 g;
	叠氮化钠	0.1 g~0.5 g;
	胆固醇酯酶	0.1 mg~0.8 mg;
	磷脂酶 A2	0.02 mg~0.1 mg; 和
[0015]	小牛血清	300 mL~450 mL;
	余量为水。	

[0016] 较佳地,所述磷酸二氢钠为6.0g,所述磷酸氢二钠为7.1g,所述氯化钠为2.9g,所述乙二酸四乙酸二钠为18.6g,所述吐温-20为1mL,所述曲拉通X-100为1mL,所述海藻糖为5.0g,所述叠氮化钠为0.1g,所述胆固醇酯酶为0.1mg,所述磷脂酶A2为0.02mg,所述小牛血清为300mL。

[0017] 较佳地,所述磷酸二氢钠为12.0g,所述磷酸氢二钠为14.2g,所述氯化钠为5.8g,所述乙二酸四乙酸二钠为37.2g,所述吐温-20为5mL,所述曲拉通X-100为5mL,所述海藻糖为50.0g,所述叠氮化钠为0.5g,所述胆固醇酯酶为0.8mg,所述磷脂酶A2为0.1mg,所述小牛血清为450mL。

[0018] 较佳地,所述磷酸二氢钠为8.4g,所述磷酸氢二钠为9.94g,所述氯化钠为4.06g,所述乙二酸四乙酸二钠为26.04g,所述吐温-20为4mL,所述曲拉通X-100为3mL,所述海藻糖为25.0g,所述叠氮化钠为0.4g,所述胆固醇酯酶为0.6mg,所述磷脂酶A2为0.05mg,所述小牛血清为400mL。

[0019] 在本发明的第二方面,提供一种用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液的制备方法,其特点是,所述的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液是上述的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液,所述的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释

液的制备方法包括步骤:将所述磷酸二氢钠、所述磷酸氢二钠、所述氯化钠、所述乙二酸四乙酸二钠、所述吐温-20、所述曲拉通X-100、所述海藻糖、所述叠氮化钠、所述胆固醇酯酶、所述磷脂酶A2、所述小牛血清和所述水搅拌溶解混合均匀。

[0020] 在本发明的第三方面,提供上述的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液或上述的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液的制备方法制备的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液在血清淀粉样蛋白A免疫检测中的应用。

[0021] 发明的有益效果主要在于:

[0022] 1、本发明的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液每升包括:磷酸二氢钠6.0g~12.0g、磷酸氢二钠7.1g~14.2g、氯化钠2.9g~5.8g、乙二酸四乙酸二钠18.6g~37.2g、吐温-201mL~5mL、曲拉通X-1001mL~5mL、海藻糖5.0g~50.0g、叠氮化钠0.1g~0.5g、胆固醇酯酶0.1mg~0.8mg、磷脂酶A20.02mg~0.1mg和小牛血清300mL~450mL,余量为水,能够减少SAA和HDL形成复合物,排除因SAA和HDL形成复合物对检测的不利,增加免疫反应速度,提高检测灵敏度,拓宽检测的线性范围,适于大规模推广应用。

[0023] 2、本发明的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液每升包括:磷酸二氢钠6.0g~12.0g、磷酸氢二钠7.1g~14.2g、氯化钠2.9g~5.8g、乙二酸四乙酸二钠18.6g~37.2g、吐温-201mL~5mL、曲拉通X-1001mL~5mL、海藻糖5.0g~50.0g、叠氮化钠0.1g~0.5g、胆固醇酯酶0.1mg~0.8mg、磷脂酶A20.02mg~0.1mg和小牛血清300mL~450mL,余量为水,设计巧妙,配制简便,成本低廉,适于大规模推广应用。

[0024] 3、本发明的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液的制备方法包括步骤:将磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、氯化钠、乙二酸四乙酸二钠、吐温-20、曲拉通X-100、海藻糖、叠氮化钠、胆固醇酯酶、磷脂酶A2、小牛血清和水搅拌溶解混合均匀,制备的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液能够减少SAA和HDL形成复合物,排除因SAA和HDL形成复合物对检测的不利,增加免疫反应速度,提高检测灵敏度,拓宽检测的线性范围,适于大规模推广应用。

[0025] 4、本发明的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液的制备方法包括步骤:将磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、氯化钠、乙二酸四乙酸二钠、吐温-20、曲拉通X-100、海藻糖、叠氮化钠、胆固醇酯酶、磷脂酶A2、小牛血清和水搅拌溶解混合均匀,设计巧妙,操作简便,适于大规模推广应用。

[0026] 5、本发明的上述的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液或上述的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液的制备方法制备的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液在血清淀粉样蛋白A免疫检测中的应用,用于减少SAA和HDL形成复合物,排除因SAA和HDL形成复合物对检测的不利,增加免疫反应速度,提高检测灵敏度,拓宽检测的线性范围,适于大规模推广应用。

[0027] 6、本发明的上述的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液或上述的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液的制备方法制备的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液在血清淀粉样蛋白A免疫检测中的应用,设计巧妙,使用简便,适于大规模推广应用。

[0028] 本发明的这些和其它目的、特点和优势,通过下述的详细说明和权利要求得以充分体现,并可通过所附权利要求中特地指出的手段、装置和它们的组合得以实现。

具体实施方式

[0029] 为了减少SAA和HDL形成复合物,排除因SAA和HDL形成复合物对检测的不利,增加免疫反应速度,提高检测灵敏度,拓宽检测的线性范围,本发明提供了一种用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液,每升所述的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液包括:

	磷酸二氢钠	6.0 g~12.0 g;
	磷酸氢二钠	7.1 g~14.2 g;
	氯化钠	2.9 g~5.8 g;
	乙二酸四乙酸二钠	18.6 g~37.2 g;
	吐温-20	1 mL~5 mL;
	曲拉通 X-100	1 mL~5 mL;
[0030]	海藻糖	5.0 g~50.0 g;
	叠氮化钠	0.1 g~0.5 g;
	胆固醇酯酶	0.1 mg~0.8 mg;
	磷脂酶 A2	0.02 mg~0.1 mg; 和
	小牛血清	300 mL~450 mL;
	余量为水。	

[0031] 所述磷酸二氢钠、所述磷酸氢二钠、所述氯化钠、所述乙二酸四乙酸二钠、所述吐温-20、所述曲拉通X-100、所述海藻糖、所述叠氮化钠、所述胆固醇酯酶、所述磷脂酶A2和所述小牛血清使用的量可以根据需要确定,较佳地,所述磷酸二氢钠为6.0g,所述磷酸氢二钠为7.1g,所述氯化钠为2.9g,所述乙二酸四乙酸二钠为18.6g,所述吐温-20为1mL,所述曲拉通X-100为1mL,所述海藻糖为5.0g,所述叠氮化钠为0.1g,所述胆固醇酯酶为0.1mg,所述磷脂酶A2为0.02mg,所述小牛血清为300mL。

[0032] 所述磷酸二氢钠、所述磷酸氢二钠、所述氯化钠、所述乙二酸四乙酸二钠、所述吐温-20、所述曲拉通X-100、所述海藻糖、所述叠氮化钠、所述胆固醇酯酶、所述磷脂酶A2和所述小牛血清使用的量可以根据需要确定,较佳地,所述磷酸二氢钠为12.0g,所述磷酸氢二钠为14.2g,所述氯化钠为5.8g,所述乙二酸四乙酸二钠为37.2g,所述吐温-20为5mL,所述曲拉通X-100为5mL,所述海藻糖为50.0g,所述叠氮化钠为0.5g,所述胆固醇酯酶为0.8mg,所述磷脂酶A2为0.1mg,所述小牛血清为450mL。

[0033] 所述磷酸二氢钠、所述磷酸氢二钠、所述氯化钠、所述乙二酸四乙酸二钠、所述吐温-20、所述曲拉通X-100、所述海藻糖、所述叠氮化钠、所述胆固醇酯酶、所述磷脂酶A2和所述小牛血清使用的量可以根据需要确定,较佳地,所述磷酸二氢钠为8.4g,所述磷酸氢二钠为9.94g,所述氯化钠为4.06g,所述乙二酸四乙酸二钠为26.04g,所述吐温-20为4mL,所述曲拉通X-100为3mL,所述海藻糖为25.0g,所述叠氮化钠为0.4g,所述胆固醇酯酶为0.6mg,所述磷脂酶A2为0.05mg,所述小牛血清为400mL。

[0034] 本发明还提供一种用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液的制备方法,包括步骤:将所述磷酸二氢钠、所述磷酸氢二钠、所述氯化钠、所述乙二酸四乙酸二钠、所述吐温-20、所述曲拉通X-100、所述海藻糖、所述叠氮化钠、所述胆固醇酯酶、所述磷脂酶A2、所述小牛血清和所述水搅拌溶解混合均匀。

[0035] 本发明还提供上述的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液或上述的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液的制备方法制备的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液在血清淀粉样蛋白A免疫检测中的应用。

[0036] 为了能够更清楚地理解本发明的技术内容,特举以下实施例详细说明。其中:

[0037] 胆固醇酯酶(Aladdin公司,9026-00-0)

[0038] 磷脂酶A2(Sigma公司,P8913-5MG)

[0039] 小牛血清(上海洛神生物技术有限公司,LS5002)

[0040] 其它常规试剂购自Sigma公司

[0041] 实施例1

[0042] 一种用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液包括以下组分:

原料名称	标准浓度 (L)
磷酸二氢钠	6.0g
磷酸氢二钠	7.1g
氯化钠	2.9g
乙二酸四乙酸二钠	18.6g
吐温-20	1mL
[0043] 曲拉通 X-100	1mL
海藻糖	5.0g
叠氮化钠	0.1g
胆固醇酯酶	0.1mg
磷脂酶 A2	0.02mg
小牛血清	300mL

余量为纯化水。

[0044] 采用本发明的稀释液(记作试验组)和对照稀释液(生理盐水(0.9% (w/v) 的氯化钠水溶液),记作对照组)分别将10份临床样本和空白样本(小牛血清40%的纯化水溶液)稀释200倍。采用流式荧光技术对稀释的样本进行双抗体夹心免疫检测。将一株小鼠单克隆抗体(购自HyTest,4SA11,克隆号:SAA1,)包被磁微粒(购自Luminex公司磁球,30#),制备固相结合物悬液,将藻红蛋白(购自ProZyme,PB31)标记另一株小鼠单克隆抗体(购自HyTest,4SA11,克隆号:SAA15),制备发光结合物溶液。将100 μ L固相结合物悬液和100 μ L稀释后的样本混匀,37.5 $^{\circ}$ C反应1h,200 μ L 0.01M PBS pH7.2溶液洗涤2次,加入100 μ L发光结合物溶液混匀,37.5 $^{\circ}$ C反应1h,200 μ L 0.01M PBS pH7.2溶液洗涤2次,100 μ L 0.01M PBS

pH7.2溶液重悬微球,用Luminex 200流式荧光仪检测荧光信号强度。结果如表1所示。

[0045] 表1流式荧光法检测不同浓度样本的信号值

[0046]

样本	浓度 (mg/L)	样本检测信号	
		试验组	对照组
样本 1	10.5	221.0	25.0
样本 2	46.7	615.5	195.0
样本 3	124.2	1250.0	663.0
样本 4	267.5	2147.5	1560.5
样本 5	413.2	2937.0	2361.0
样本 6	563.1	3712.0	2861.0
样本 7	727.3	4567.0	3247.0
样本 8	865.9	5231.5	3451.5
空白样本 1	0	25.0	24.5
空白样本 2	0	22.5	23.0

[0047]

[0048] 表1的结果显示,不同浓度样本,试验组的检测信号值明显比对照组高,在低值区的信号响应特别明显,对照组对10.5mg/L的样本检测信号值接近空白样本,而试验组的响应值与空白有明显区别,可以很明显的发现,试验组的信噪比比对照组高,因此灵敏度比对照组高。试验组在样本浓度10.5~865.9mg/L的浓度跨度内,线性良好,优于对照组。

[0049] 实施例2

[0050] 一种用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液包括以下组分:

原料名称	标准浓度 (/L)
磷酸二氢钠	12.0g
磷酸氢二钠	14.2g
氯化钠	5.8g
乙二酸四乙酸二钠	37.2g
吐温-20	5mL
曲拉通 X-100	5mL
海藻糖	50.0g
叠氮化钠	0.5g
胆固醇酯酶	0.8mg
磷脂酶 A2	0.1mg

[0051]

小牛血清

450mL

[0052]

余量为纯化水。

[0053] 采用本发明的稀释液(记作试验组)和对照稀释液(生理盐水(0.9% (w/v) 的氯化钠水溶液),记作对照组)分别将10份临床样本和空白样本(小牛血清40%的纯化水溶液)稀释200倍。采用流式荧光技术对稀释的样本进行双抗体夹心免疫检测。将一株小鼠单克隆抗体(购自HyTest,4SA11,克隆号:SAA1)包被磁微粒(购自Luminex公司磁球,30#),制备固相结合物悬液,将藻红蛋白(购自ProZyme,PB31)标记另一株小鼠单克隆抗体(购自HyTest,4SA11,克隆号:SAA15),制备发光结合物溶液。将100 μ L固相结合物悬液和100 μ L稀释后的样本混匀,37.5 $^{\circ}$ C反应1h,200 μ L 0.01M PBS pH7.2溶液洗涤2次,加入100 μ L发光结合物溶液混匀,37.5 $^{\circ}$ C反应1h,200 μ L 0.01M PBS pH7.2溶液洗涤2次,100 μ L 0.01M PBS pH7.2溶液重悬微球,用Luminex 200流式荧光仪检测荧光信号强度。结果如表2所示。

[0054] 表2流式荧光法检测不同浓度样本的信号值

[0055]

样本	浓度 (mg/L)	样本检测信号	
		试验组	对照组
样本 1	43.6	357.0	29.0
样本 2	78.7	755.0	41.0
样本 3	95.2	824.0	125.0
样本 4	143.7	1163.0	388.5
样本 5	185.5	1525.5	641.0
样本 6	247.4	1988.0	1035.5
样本 7	357.6	2814.5	1547.0
样本 8	553.6	4252.0	2431.0
空白样本 1	0	25.5	24.0
空白样本 2	0	26.0	23.5

[0056] 表2的结果显示,不同浓度样本,试验组的检测信号值明显比对照组高,在低值区的信号响应特别明显,对照组对43.6mg/L和78.7mg/L的样本检测信号值接近空白样本,甚至低于空白样本,而试验组的响应值与空白有明显区别,可以很明显的发现,试验组的信噪比比对照组高,因此灵敏度比对照组高。试验组在样本浓度43.6~553.6mg/L的浓度跨度内,线性良好,优于对照组。

[0057] 实施例3

[0058] 一种用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液包括以下组分:

	磷酸二氢钠	8.4g
	磷酸氢二钠	9.94g
	氯化钠	4.06g
	乙二酸四乙酸二钠	26.04g
	吐温-20	4.0mL
	曲拉通 X-100	3.0mL
[0059]	海藻糖	25.0g
	叠氮化钠	0.4.0g
	胆固醇酯酶	0.6mg
	磷脂酶 A2	0.05mg
	小牛血清	400mL

余量为纯化水。

[0060] 采用本发明的稀释液(记作试验组)和对照稀释液(生理盐水(0.9% (w/v) 的氯化钠水溶液), 记作对照组) 分别将10份临床样本和空白样本(小牛血清40%的纯化水溶液) 稀释200倍。采用流式荧光技术对稀释的样本进行双抗体夹心免疫检测。将一株小鼠单克隆抗体(购自HyTest, 4SA11, 克隆号:SAA1) 包被磁微粒(购自Luminex公司磁球, 30#), 制备固相结合物悬液, 将藻红蛋白(购自ProZyme, PB31) 标记另一株小鼠单克隆抗体(购自HyTest, 4SA11, 克隆号:SAA15), 制备发光结合物溶液。将100μL固相结合物悬液和100μL稀释后的样本混匀, 37.5℃反应1h, 200μL 0.01M PBS pH7.2溶液洗涤2次, 加入100μL发光结合物溶液混匀, 37.5℃反应1h, 200μL 0.01M PBS pH7.2溶液洗涤2次, 100μL 0.01M PBS pH7.2溶液重悬微球, 用Luminex 200流式荧光仪检测荧光信号强度。结果如表3所示。

[0061] 表3流式荧光法检测不同浓度样本的信号值

[0062]	样本	浓度 (mg/L)	样本检测信号	
			试验组	对照组

[0063]

样本 1	15.6	186.0	28.5
样本 2	30.8	384.5	35.0
样本 3	85.7	1421.0	55.5
样本 4	169.4	2417.5	237.5
样本 5	225.3	2887.5	556.5
样本 6	341.8	3574.0	1795.0
样本 7	557.8	4431.5	3265.0
样本 8	768.4	5017.0	3674.0
空白样本 1	0	23.5	24.0
空白样本 2	0	20.5	25.5

[0064] 表3的结果显示,不同浓度样本,试验组的检测信号值明显比对照组高,在低值区的信号响应特别明显,对照组对15.6mg/L、30.8mg/L的样本检测信号值接近空白样本,而试验组的相应值与空白有明显区别,可以很明显的发现,试验组的信噪比比对照组高,因此灵敏度比对照组高。试验组在样本浓度15.6~768.4mg/L的浓度跨度内,线性良好,优于对照组。

[0065] 本发明针对SAA的免疫检测技术中,SAA和HDL形成复合物会影响抗体对SAA的免疫结合,限制SAA免疫检测的灵敏度和线性范围的问题,提供一种血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液,可以使SAA样本在免疫检测前被充分预处理,有助于SAA与脂蛋白特别是HDL的分离,特别是通过改变HDL颗粒的完整性,促进复合物对SAA的释放,减少空间位阻效应,提高特异性抗体对SAA的免疫识别能力,排除因SAA和HDL形成复合物对检测的不利,维持反应内环境的稳定,增加免疫反应速度,提高检测灵敏度,拓宽检测的线性范围。

[0066] 综上,本发明的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液能够促使SAA和HDL复合物分离,降低因SAA和HDL形成复合物对检测的不利,增加免疫反应速度,提高检测灵敏度,拓宽检测的线性范围,且设计巧妙,配制简便,成本低廉,适于大规模推广应用。

[0067] 由此可见,本发明的目的已经完整并有效的予以实现。本发明的功能及结构原理已在实施例中予以展示和说明,在不背离所述原理下,实施方式可作任意修改。所以,本发明包括了基于权利要求精神及权利要求范围的所有变形实施方式。

专利名称(译)	用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液及其制备方法和应用		
公开(公告)号	CN107966559A	公开(公告)日	2018-04-27
申请号	CN201610912591.9	申请日	2016-10-20
[标]申请(专利权)人(译)	上海透景诊断科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	上海透景诊断科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	上海透景诊断科技有限公司		
[标]发明人	石旭 蔡勇华 姚见儿		
发明人	石旭 蔡勇华 姚见儿		
IPC分类号	G01N33/533 G01N33/543		
CPC分类号	G01N33/533 G01N33/54326		
代理人(译)	曾耀先		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供一种用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液，每升用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液包括：磷酸二氢钠6.0g~12.0g、磷酸氢二钠7.1g~14.2g、氯化钠.9g~5.8g、乙二酸四乙酸二钠18.6g~37.2g、吐温-20 1mL~5mL、曲拉通X-100 1mL~5mL、海藻糖5.0g~50.0g、叠氮化钠0.1g~0.5g、胆固醇酯酶0.1mg~0.8mg、磷脂酶A2 0.02mg~0.1mg和小牛血清300mL~450mL，余量为水。本发明还提供了相关制备方法和应用。本发明的用于血清淀粉样蛋白A免疫检测的样本稀释液能够减少SAA和HDL形成复合物，排除因SAA和HDL形成复合物对检测的不利，增加免疫反应速度，提高检测灵敏度，拓宽检测的线性范围，且设计巧妙，配制简便，成本低廉，适于大规模推广应用。

磷酸二氢钠	6.0 g~12.0 g;
磷酸氢二钠	7.1 g~14.2 g;
氯化钠	2.9 g~5.8 g;
乙二酸四乙酸二钠	18.6 g~37.2 g;
吐温-20	1 mL~5 mL;
曲拉通 X-100	1 mL~5 mL;