



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104181310 A

(43) 申请公布日 2014. 12. 03

(21) 申请号 201410368022. 3

(22) 申请日 2014. 07. 30

(71) 申请人 美艾利尔(上海)诊断产品有限公司
地址 201203 上海市浦东新区张江高科技园
区李冰路 151 号 7 号楼

(72) 发明人 赵金博 张展英 周蓓昕

(74) 专利代理机构 上海浦一知识产权代理有限
公司 31211

代理人 王函

(51) Int. Cl.

G01N 33/76 (2006. 01)

G01N 33/531 (2006. 01)

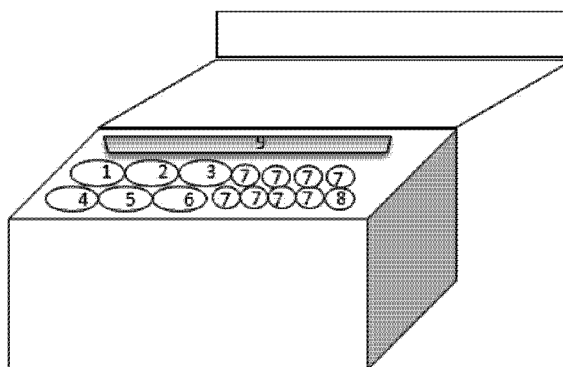
权利要求书2页 说明书6页 附图2页

(54) 发明名称

一种检测 β -hCG 含量的时间分辨免疫荧光
试剂盒及其制备方法和应用

(57) 摘要

本发明公开了一种检测 β -hCG 含量的时间
分辨免疫荧光试剂盒,包括盒体和盒体上方的盒
盖,所述盒体内设有放置包被抗 β -hCG 单克隆抗
体的酶标板的隔层;所述盒体内设有放置试剂瓶
的容器孔,所述容器孔内放置有:装有分析液的
试剂瓶;装有清洗液的试剂瓶;装有增强液的试
剂瓶;装有 β -hCG 校准品的试剂瓶;装有标记的
抗 α -TSH 单克隆抗体的试剂瓶。此外,本发明还
公开了该试剂盒的制备方法及其在检测 β -hCG
含量中的应用。本发明试剂盒的灵敏度高、检测范
围广、稳定性好。本发明可利用全自动时间分辨
荧光免疫分析仪进行全自动操作,操作简单省时,
灵敏度高,可达到 0.01mIU/ml;准确性好、且无辐射
污染。



1. 一种检测 β -hCG 含量的时间分辨免疫荧光试剂盒,包括盒体和盒体上方的盒盖,其特征在于,所述盒体内设有放置包被抗 β -hCG 单克隆抗体的酶标板的隔层;所述盒体内设有放置试剂瓶的容器孔,所述容器孔内放置有:

- 装有分析液的试剂瓶;
- 装有清洗液的试剂瓶;
- 装有增强液的试剂瓶;
- 装有 β -hCG 校准品的试剂瓶;
- 装有标记的抗 α -TSH 单克隆抗体的试剂瓶。

2. 如权利要求 1 所述的一种检测 β -hCG 含量的时间分辨免疫荧光试剂盒,其特征在于,所述容器孔内还放置有:装有包被液的试剂瓶、装有封闭保护液的试剂瓶、以及装有洗脱液的试剂瓶。

3. 如权利要求 1 所述的一种检测 β -hCG 含量的时间分辨免疫荧光试剂盒,其特征在于,所述酶标板为带保护膜的 96 孔酶标板。

4. 根据权利要求 1 所述的一种检测 β -hCG 含量的时间分辨免疫荧光试剂盒,其特征在于,所述抗 β -hCG 单克隆抗体的浓度为 1-10 μ g/ml。

5. 根据权利要求 1 所述的一种检测 β -hCG 含量的时间分辨免疫荧光试剂盒,其特征在于,所述标记的抗 α -TSH 单克隆抗体的标记物是三价铈离子。

6. 根据权利要求 1 或 5 所述的一种检测 β -hCG 含量的时间分辨免疫荧光试剂盒,其特征在于,所述标记的抗 α -TSH 单克隆抗体中抗体与标记物的标记重量比例是 (6-10):1。

7. 根据权利要求 1 所述的一种检测 β -hCG 含量的时间分辨免疫荧光试剂盒,其特征在于,所述 β -hCG 校准品为尿液配制的 β -hCG 标准品。

8. 一种根据权利要求 5 所述的试剂盒的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

(1) 抗 β -hCG 单克隆抗体包被酶标板的制备:

将抗 β -hCG 单克隆抗体在包被液中透析,再加入至酶标板上,于 2-8 $^{\circ}$ C 包被 48 小时以上;用清洗液清洗酶标板后,加入封闭保护液,室温封闭 20 小时以上;甩干封闭保护液干燥密封,置于 2-8 $^{\circ}$ C 冰箱备用;

(2) 三价铈标记的抗 α -TSH 单克隆抗体的制备:

将抗 α -TSH 单克隆抗体,用标记液进行透析,取透析好的抗 α -TSH 单克隆抗体,用标记液稀释;将抗体加入到冻干的铈标记液中缓慢摇匀后置于 2-8 $^{\circ}$ C 冰箱中过夜;用纯化柱纯化 2-8 $^{\circ}$ C 过夜的标记液,收集标记物,加入 0.1% BSA 置于 -80 \pm 10 $^{\circ}$ C 冷冻保存备用;

(3) β -hCG 校准品的制备:

用 β -hCG 干粉和阴性尿液配制浓度为 0、15、25、37.5、50、75 和 100mIU/ml 的 β -hCG 校准尿液,置于 -80 \pm 10 $^{\circ}$ C 冷冻保存备用;

所述清洗液、分析液和增强液为市售商品。

9. 根据权利要求 8 所述的制备方法,其特征在于,步骤 (2) 中,所述将抗体加入到冻干的铈标记液中,其中抗体与铈标记液的重量比例为 (6-10):1。

10. 根据权利要求 8 所述的制备方法,其特征在于,步骤 (2) 中,所述用纯化柱纯化 2-8 $^{\circ}$ C 过夜的标记液,收集标记物具体为:取纯化柱,用洗脱液洗脱平衡至少 2 小时,将 2-8 $^{\circ}$ C 过夜的标记液全部转入柱子的顶端,重力自然洗脱,以 0.25ml/管为单位进行收集。

11. 一种根据权利要求1所述的试剂盒在检测 β -hCG含量中的应用,其特征在于,该检测方法包括如下步骤:

(1) 将 β -hCG校准品和待检样品依次加入到抗 β -hCG单克隆抗体包被的酶标板上,再加入分析液,震荡孵育;

(2) 将清洗液用去离子水进行稀释,然后用已稀释的清洗液清洗酶标板并甩干;

(3) 将纯化好的三价铈标记的抗 α -TSH单克隆抗体,用分析液稀释,加入酶标板中,震荡孵育;

(4) 用清洗液清洗酶标板并甩干;

(5) 加入增强液,使用全自动时间分辨荧光免疫分析仪检测荧光信号;

(6) 根据荧光数值建立标准曲线,将待检样品的荧光信号代入到标准曲线中,求得待检样品的浓度。

一种检测 β -hCG 含量的时间分辨免疫荧光试剂盒及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及体外免疫诊断试剂领域,尤其涉及一种检测尿液中 β -hCG 的时间分辨免疫荧光试剂盒及其制备方法和应用,实现对尿液中 β -hCG 含量的定量检测。

背景技术

[0002] 人绒毛膜促性腺激素 (hCG),是由胎盘绒毛膜的合体滋养层产生的一种糖蛋白, β 亚单位是特异性抗原,其结构与其它垂体前叶激素不同。

[0003] 质量是一家生产型企业的立足之本。许多做 hCG 测试笔的体外诊断公司,需要利用含一定浓度 β -hCG 标准品进行测试笔功能性检测,从而确认此批测试笔是否达到标准,能否出售,这是一个关键质量控制点。标准品若不合格,有可能对测试笔的性能进行误判,对企业产生不利的影 响。因此有必要发展一种灵敏度高、检测范围广、稳定性好的定量检测试剂盒,用于监测含一定浓度的 β -hCG 标准品的性能。

[0004] 目前市售的试剂盒大多以酶联免疫为主,以血清为标本进行定量检测 β -hCG 含量,灵敏度一般,检测范围偏窄,取样操作复杂、不方便。尿液中 β -hCG 含量的测定已经是体外快速检测产品的一项重要指标,通过尿液中 β -hCG 含量的多少,可直接判断出是否怀孕以及怀孕的周数,取样简单、便捷。作为早早孕体外快速检测产品的质控标准品,也是用尿液来配制或者标定的;容易引起疏忽的是:不管是正常男性或妇女的尿液中,本身就存在一定含量(极低水平)的 β -hCG 抗原。因此定量测定尿液中 β -hCG 的含量,可为标准品的准确性提供一种定量的保证,也可辅助早期判断妊娠、流产、宫外孕等。

[0005] 时间分辨免疫荧光分析法 (Time-resolved fluoroimmunoassay, TRFIA),是利用具有独特荧光特性的镧系元素作为标记示踪物,代替酶、同位素等,成为发光免疫分析中的一种重要方法,具有灵敏度高、示踪物稳定、不受样品自然荧光干扰、无放射性污染等许多优点。

[0006] 目前,对于采用时间分辨免疫荧光分析法检测尿液中 β -hCG 含量尚未见报道。

发明内容

[0007] 本发明要解决的技术问题之一是提供一种检测尿液中 β -hCG 含量的时间分辨免疫荧光试剂盒,其灵敏度高、检测范围广、稳定性好,取样方便,快速。

[0008] 本发明要解决的技术问题之二是提供该试剂盒的制备方法。

[0009] 本发明要解决的技术问题之三是提供该试剂盒在检测 β -hCG 含量中的应用。

[0010] 为解决上述技术问题,本发明采用如下技术方案:

[0011] 在本发明的一方面,提供一种检测 β -hCG 含量的时间分辨免疫荧光试剂盒,包括盒体和盒体上方的盒盖,所述盒体内设有放置包被抗 β -hCG 单克隆抗体的酶标板的隔层;所述盒体内设有放置试剂瓶的容器孔,所述容器孔内放置有:

[0012] 装有分析液的试剂瓶;

- [0013] 装有清洗液的试剂瓶；
- [0014] 装有增强液的试剂瓶；
- [0015] 装有 β -hCG 校准品的试剂瓶；其中， β -hCG 校准品的浓度已知，用于建立标准曲线；
- [0016] 装有标记的抗 α -TSH 单克隆抗体的试剂瓶。
- [0017] 作为本发明优选的技术方案，所述容器孔内还放置有：装有包被液的试剂瓶、装有封闭保护液的试剂瓶、以及装有洗脱液的试剂瓶。
- [0018] 作为本发明优选的技术方案，所述酶标板为带保护膜的 96 孔酶标板。
- [0019] 作为本发明优选的技术方案，所述抗 β -hCG 单克隆抗体的浓度为 1-10 μ g/ml。
- [0020] 所述标记的抗 α -TSH 单克隆抗体的标记物可以采用本领域常用的标记物，例如镧系元素。作为本发明优选的技术方案，所述标记的抗 α -TSH 单克隆抗体的标记物优选是三价铈离子。
- [0021] 作为本发明优选的技术方案，所述标记的抗 α -TSH 单克隆抗体中抗体与标记物的标记重量比例是 (6-10):1。
- [0022] 作为本发明优选的技术方案，所述 β -hCG 校准品为尿液配制的 β -hCG 标准品。
- [0023] 在本发明的另一方面，还提供了一种上述试剂盒的制备方法，包括以下步骤：
- [0024] (1) 抗 β -hCG 单克隆抗体包被酶标板的制备：
- [0025] 将抗 β -hCG 单克隆抗体在包被液中透析，再加入到酶标板上，于 2-8 $^{\circ}$ C 包被 48 小时以上；用清洗液清洗酶标板后，加入封闭保护液，室温封闭 20 小时以上；甩干封闭保护液干燥密封，置于 2-8 $^{\circ}$ C 冰箱备用；
- [0026] (2) 三价铈标记的抗 α -TSH 单克隆抗体的制备：
- [0027] 将抗 α -TSH 单克隆抗体，用标记液进行透析，取透析好的抗 α -TSH 单克隆抗体，用标记液稀释；将抗体加入到冻干的铈标记液中缓慢摇匀后置于 2-8 $^{\circ}$ C 冰箱中过夜；用纯化柱纯化 2-8 $^{\circ}$ C 过夜的标记液，收集标记物，加入 0.1% BSA 置于 -80 \pm 10 $^{\circ}$ C 冷冻保存备用；
- [0028] (3) β -hCG 校准品的制备：
- [0029] 用 β -hCG 干粉和阴性尿液配制浓度为 0、15、25、37.5、50、75 和 100mIU/ml 的 β -hCG 校准尿液，置于 -80 \pm 10 $^{\circ}$ C 冷冻保存备用；
- [0030] 所述清洗液、分析液和增强液为市售商品。
- [0031] 作为本发明优选的技术方案，步骤 (2) 中，所述将抗体加入到冻干的铈标记液中，其中抗体与铈标记液的重量比例为 (6-10):1。
- [0032] 作为本发明优选的技术方案，步骤 (2) 中，所述用纯化柱纯化 2-8 $^{\circ}$ C 过夜的标记液，收集标记物具体为：取纯化柱，用洗脱液洗脱平衡至少 2 小时，将 2-8 $^{\circ}$ C 过夜的标记液全部转入柱子的顶端，重力自然洗脱，以 0.25ml/管为单位进行收集。
- [0033] 在本发明的另一方面，还提供该试剂盒在检测 β -hCG 含量中的应用，该检测方法包括如下步骤：
- [0034] (1) 将 β -hCG 校准品和待检样品依次加入到抗 β -hCG 单克隆抗体包被的酶标板上，再加入分析液，震荡孵育；
- [0035] (2) 将清洗液用去离子水进行稀释，然后用已稀释的清洗液清洗酶标板并甩干；
- [0036] (3) 将纯化好的三价铈标记的抗 α -TSH 单克隆抗体，用分析液稀释，加入酶标板

中,震荡孵育;

[0037] (4) 用清洗液清洗酶标板并甩干;

[0038] (5) 加入增强液,使用全自动时间分辨荧光免疫分析仪检测荧光信号;

[0039] (6) 根据荧光数值建立标准曲线,将待检样品的荧光信号代入到标准曲线中,求得待检样品的浓度。

[0040] 上述术语说明如下:

[0041] 本发明所述的“分析液”:Assay Buffer,市售商品,采购自Perkin Elmer,货号:4002-0010。在检测时使用的缓冲液。

[0042] 本发明所述的“清洗液”:Wash Solution,市售商品,采购自Perkin Elmer,货号:B117-100。用于酶标板清洗的溶液。

[0043] 本发明所述的“增强液”:Enhancement Solution,市售商品,采购自Perkin Elmer,货号:B118-100。可使标记物从反应复合物上解离下来的溶液。

[0044] 本发明所述的“包被液”:可自行配制,用于将抗体包被在酶标板上的溶液。

[0045] 本发明所述的“标记液”:可自行配制,用于将抗原与标记物结合到一起的溶液。

[0046] 本发明所述的“封闭保护液”:可自行配制,用于将包被在酶标板上的抗体封闭保护在酶标板上的溶液。

[0047] 本发明所述的“洗脱液”:可自行配制,用于洗脱平衡PD10柱子的溶液。

[0048] 和现有技术相比,本发明具有以下有益效果:

[0049] 1 使用本发明能够准确定量检测QC标准品中 β -hCG含量,即确认标准品性能,为准确检测hCG测试笔提供保障,增加了企业对hCG测试笔的质量控制,避免了因标准品问题引起的产品质量调查、返工、客户投诉等,节约了企业的人力、物力和时间成本,具有良好的经济效益。

[0050] 2 使用本发明也能够用于定量检测尿液中 β -hCG的含量,对于早期判断妊娠、流产、宫外孕等起到一定帮助,定量检测尿液中 β -hCG的含量相比检测血液中的 β -hCG的含量,其取样更简便,操作性更强。

[0051] 3 与现有技术相比,本发明可利用AutoDELFIA1235(全自动时间分辨荧光免疫分析仪)进行全自动操作,操作简单省时,加样量小(50u1/份);灵敏度高,可达到0.01mIU/ml;准确性好,标准曲线 R^2 值接近1,线性稳定,由标准曲线拟合出的回归方程准确,便于样品浓度计算;无辐射污染;检测样品量大,一次可最多检测953份样品。

[0052] 4. 本发明检测范围广,可检测 β -hCG含量范围为0~3500IU/ml。

附图说明

[0053] 图1是时间免疫荧光试剂盒的原理示意图;

[0054] 图2是本发明一种检测 β -hCG含量的时间分辨免疫荧光试剂盒的结构示意图;

[0055] 图3是本发明的试剂瓶的结构示意图;

[0056] 图4是本发明的酶标板的结构示意图;

[0057] 图5是本发明实施例1中的洗脱曲线示意图;

[0058] 图6是本发明实施例2中荧光数值建立标准曲线示意图。

[0059] 图中附图标记说明:

[0060] 1 是装有分析液的试剂瓶,2 是装有清洗液的试剂瓶,3 是装有增强液的试剂瓶,4 是装有包被液的试剂瓶,5 是装有封闭保护液的试剂瓶,6 是装有洗脱液的试剂瓶,7 是装有 β -hCG 校准品的试剂瓶,8 是装有标记的抗 α -TSH 单克隆抗体的试剂瓶,9 是酶标板,11 是包被在酶标板上的抗 β -hCG 单克隆抗体,12 是待测样品中的 β -hCG 抗原,13 是三价铕离子 (Eu^{3+}) 标记的抗 α -TSH 单克隆抗体,14 是双抗体夹心法免疫复合物,15 是含铕的荧光物质,21 是 5ml 试剂瓶,22 是 30ml 试剂瓶,91 是加样孔,92 是保护膜。

具体实施方式

[0061] 下面结合附图和实施例对本发明作进一步详细的说明。

[0062] 如图 1 所示,本发明的原理是双抗体夹心法,具体包括如下步骤:将抗 β -hCG 单克隆抗体包被到 96 孔酶标板上,形成包被在酶标板上的抗 β -hCG 单克隆抗体 11,标记物是三价铕离子 (Eu^{3+}) 标记的抗 α -TSH 单克隆抗体 3,待测样品中的 β -hCG 抗原 12 先与包被在酶标板上的抗 β -hCG 单克隆抗体 1 反应(震荡、洗板),然后与 Eu^{3+} 标记的抗 α -TSH 单克隆抗体 13 反应(震荡、洗板),形成双抗体夹心法免疫复合物 14,加入增强液震荡反应,加入含铕的荧光物质 15 在荧光检测设备如 AutoDELFI A1235 上读荧光信号,进行 TRFIA 检测从而确定标准品中 β -hCG 的浓度。

[0063] 如图 2 所示,本发明的一种检测 β -hCG 含量的时间分辨免疫荧光试剂盒,包括盒体和盒体上方的盒盖,所述盒体内设有放置包被抗 β -hCG 单克隆抗体的酶标板 9 的隔层;所述盒体内设有放置试剂瓶的容器孔,所述容器孔内放置有:装有分析液的试剂瓶 1;装有清洗液的试剂瓶 2;装有增强液的试剂瓶 3;装有包被液的试剂瓶 4;装有封闭保护液的试剂瓶 5;装有洗脱液的试剂瓶 6;装有 β -hCG 校准品的试剂瓶 7;装有标记的抗 α -TSH 单克隆抗体的试剂瓶 8。

[0064] 如图 3 所示,试剂瓶采用 5ml 试剂瓶 21 或 30ml 试剂瓶 22。5ml 试剂瓶 21 是塑料广口瓶(采用聚丙烯材质)。30ml 试剂瓶 22 是塑料离心管(采用聚丙烯材质)。

[0065] 如图 4 所示,酶标板 9 为带保护膜 92 的 96 孔酶标板,有 96 个加样孔 91。

[0066] 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不适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,通常按照常规条件或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明,否则所有的百分数、比率、比例、或份数按重量计。

[0067] 实施例 1 试剂盒的制备

[0068] 上述试剂盒的制备方法如下:

[0069] 1. 200mmol/L pH = 6.8 \pm 0.1 包被液的配制

[0070] 将 35.08g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、5.91g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 和 9g NaCl 加入到 600ml 去离子水中,用 1N HCl 和 1N NaOH 调整 PH 值至 6.8 \pm 0.1,定容到 1L。

[0071] 2. 50mmol/L pH = 6.8 封闭保护液的配制

[0072] 将 8.77g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 和 3.98g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 加入到 600ml 去离子水中,再依次加入 1g BSA(牛血清白蛋白),60g Trehalose(海藻糖)和 1g Diazolidinyl Urea(双咪唑烷基脲),待完全溶解后调整 PH 值至 6.8 \pm 0.1,定容到 1L。

[0073] 3. 100mmol/L pH = 9.3 Eu^{3+} 标记液的配制

[0074] 将 2.12g Na_2CO_3 和 6.72g NaHCO_3 加入到 600ml 去离子水中,用 1N HCl 和 1N NaOH 调整 PH 值至 9.3 ± 0.1 ,定容到 1L。

[0075] 4.50mmol/L $\text{pH} = 7.8 \pm 0.1$ 洗脱液的配制

[0076] 将 6.057g Tris,9g NaCl 和 345ml 0.1N HCl 加入 600ml 去离子水中,用 1N HCl 和 1N NaOH 调整 PH 值至 7.8 ± 0.1 ,定容到 1L。

[0077] 5. 抗 β -hCG 单克隆抗体包被酶标板的制备

[0078] 5.1 从冰箱中取出抗 β -hCG 单克隆抗体 (采购自 AlereSanDiego,货号:3468,作为包被抗体使用),用 200mmol/L $\text{pH} = 6.8 \pm 0.1$ 的包被液进行透析,将透析好的抗 β -hCG 单克隆抗体在紫外分光光度计下测定浓度,然后用此包被液将抗体稀释到 $8 \mu\text{g/ml}$,混匀备用。

[0079] 5.2 取出 96 孔酶标板,恢复至室温,每孔加入 $150 \mu\text{l}$ 用包被液稀释好的 $8 \mu\text{g/ml}$ 抗 β -hCG 单克隆抗体,将 96 孔酶标板置于 $2-8^\circ\text{C}$ 包被 48 小时以上。

[0080] 5.3 取出 96 孔酶标板,将液体甩干,用 1:25 清洗液清洗 3 次,甩干,仔细检查孔中不能存有液体。每孔加入 $200 \mu\text{l}$ 50mmol/L $\text{pH} = 6.8 \pm 0.1$ 的封闭保护液,于室温封闭 20 小时以上。

[0081] 5.4 取出 96 孔酶标板,将封闭保护液甩干,放入自封袋中并同时放入适量的干燥剂, $2-8^\circ\text{C}$ 冰箱干燥备用。

[0082] 6. 抗 α -TSH 单克隆抗体的三价铕 (Eu^{3+}) 标记

[0083] 6.1 将抗 α -TSH 单克隆抗体 (采购自 AlereSanDiego,货号:3299,作为标记抗体使用),用 100mmol/L $\text{pH} = 9.3 \pm 0.1$ 的标记液进行透析。

[0084] 6.2 取透析好的抗 α -TSH 单克隆抗体,用标记液稀释至 1.2mg/ml。

[0085] 6.3 按照抗体与铕标 (6-10):1 的结合比例,将 1.2mg/ml 抗 α -TSH 单克隆抗体加入到冻干的 Eu-Labeling Reagent (铕标记液) 中,缓慢摇匀,置于 $2-8^\circ\text{C}$ 冰箱中过夜,待用。

[0086] 6.3 取 PD-10 (Sephadex G-50M 填料) 纯化柱,用 50 mmol/L $\text{pH} = 7.8 \pm 0.1$ 的洗脱液洗脱平衡至少 2 小时。

[0087] 6.4 将 $2-8^\circ\text{C}$ 过夜的标记液 (含抗 α -TSH 单克隆抗体) 全部转入柱子的顶端,重力自然洗脱,以 0.25ml/管为单位进行收集。收集好后,每管取 $10 \mu\text{L}$ 依次加入到 96 孔酶标板中,用 AutoDELFLIA 1235 (全自动时间分辨荧光免疫分析仪) 进行荧光读数,将所得数据利用 Excel (或其它软件) 进行描绘曲线。

[0088] 6.5 按照图 5 的洗脱曲线,收集两个箭头中间的部分用于检测,把两个箭头中间的部分合并后,根据体积估算,加入总体积 0.1% 的 BSA, $-80 \pm 10^\circ\text{C}$ 冷冻保存备用。

[0089] 7. β -hCG 校准品 (浓度已知,用于建立标准曲线)

[0090] 用 β -hCG 干粉 (来源于世界卫生组织 WHO) 和阴性尿液配制浓度为 0、15、25、37.5、50、75 和 100mIU/ml 的 β -hCG 校准尿液, $-80 \pm 10^\circ\text{C}$ 冷冻保存备用。

[0091] 8. 分析液 (市售商品) Assay Buffer, 采购自 Perkin Elmer, 货号:4002-0010。

[0092] 9. 清洗液 (市售商品) Wash Solution, 采购自 Perkin Elmer, 货号:B117-100。

[0093] 10. 增强液 (市售商品) Enhancement Solution, 采购自 Perkin Elmer, 货号:B118-100。

[0094] 实施例 2 试剂盒的应用

[0095] 本发明还提供了试剂盒的应用方法：

[0096] 1. 将浓度为 0、15、25、37.5、50、75 和 100mIU/ml 的 β -hCG 校准品和待检样品依次加入到抗 β -hCG 单克隆抗体包被的酶标板上, 每个校准品和待检样品重复三孔, 每孔加样 50 μ l, 再加入 150 μ l 分析液, 震荡孵育 30 分钟。

[0097] 2. 将清洗液用去离子水进行 25 倍稀释, 然后用已稀释的清洗液清洗酶标板 3 次并甩干。

[0098] 3. 将纯化好的三价钬标记的抗 α -TSH 单克隆抗体, 用分析液 1:100 稀释, 200 μ l/孔加入酶标板中, 震荡孵育 30 分钟。

[0099] 4. 用 1:25 清洗液清洗酶标板 6 次并甩干。

[0100] 5. 每孔加入 300 μ l 增强液, 使用 AutoDELFIA 1235 检测荧光信号。

[0101] 6. 使用 EXCEL 或其他软件, 根据荧光数值建立标准曲线 (见图 6), 将待检样品的荧光信号代入到标准曲线中, 可求得待检样品的浓度, 即检测出 β -hCG 的含量。

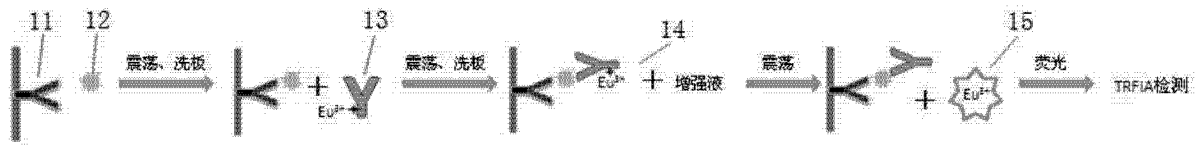


图 1

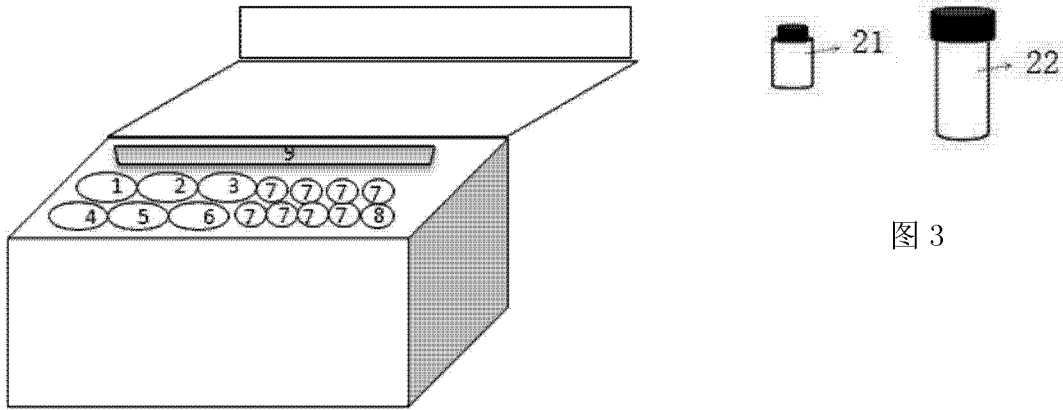


图 3

图 2

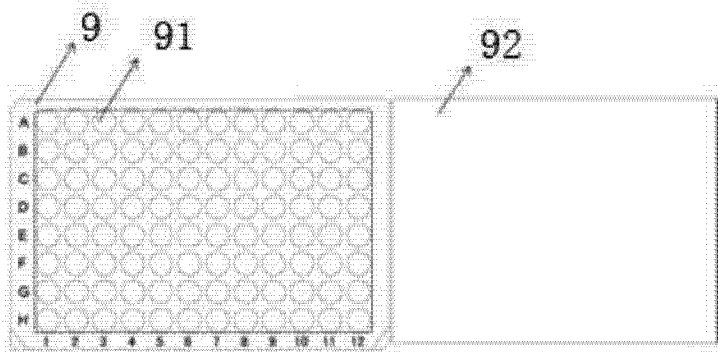


图 4

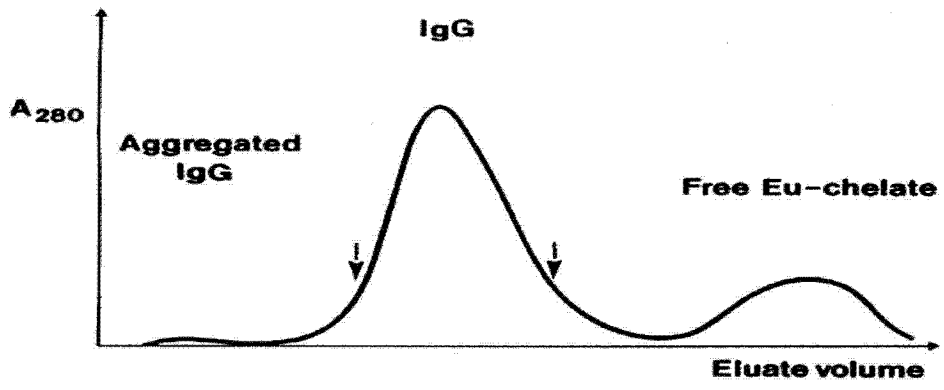


图 5

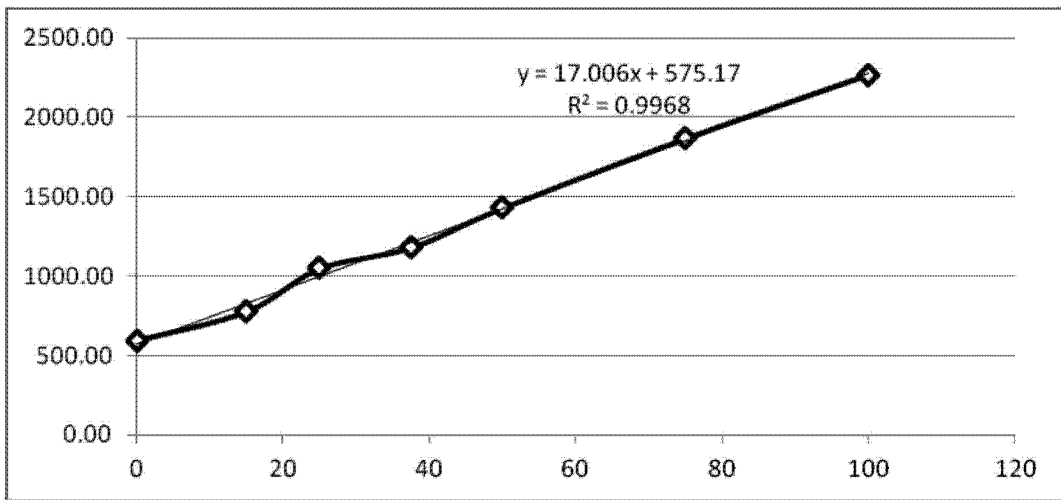


图 6

专利名称(译)	一种检测 β -hCG含量的时间分辨免疫荧光试剂盒及其制备方法和应用		
公开(公告)号	CN104181310A	公开(公告)日	2014-12-03
申请号	CN201410368022.3	申请日	2014-07-30
[标]申请(专利权)人(译)	美艾利尔(上海)诊断产品有限公司		
申请(专利权)人(译)	美艾利尔(上海)诊断产品有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	美艾利尔(上海)诊断产品有限公司		
[标]发明人	赵金博 张展英 周蓓昕		
发明人	赵金博 张展英 周蓓昕		
IPC分类号	G01N33/76 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/54366 G01N33/54386 G01N33/60 G01N33/76 G01N2333/59 G01N2800/36 G01N2800/368		
代理人(译)	王函		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种检测 β -hCG含量的时间分辨免疫荧光试剂盒，包括盒体和盒体上方的盒盖，所述盒体内设有放置包被抗 β -hCG单克隆抗体的酶标板的隔层；所述盒体内设有放置试剂瓶的容器孔，所述容器孔内放置有：装有分析液的试剂瓶；装有清洗液的试剂瓶；装有增强液的试剂瓶；装有 β -hCG校准品的试剂瓶；装有标记的抗 α -TSH单克隆抗体的试剂瓶。此外，本发明还公开了该试剂盒的制备方法及其在检测 β -hCG含量中的应用。本发明试剂盒的灵敏度高、检测范围广、稳定性好。本发明可利用全自动时间分辨荧光免疫分析仪进行全自动操作，操作简单省时，灵敏度高，可达到0.01mIU/ml；准确性好、且无辐射污染。

