



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108008130 A

(43)申请公布日 2018.05.08

(21)申请号 201711190758.6

(22)申请日 2017.11.24

(71)申请人 海格德生物科技(深圳)有限公司
地址 518118 广东省深圳市坪山区金辉路
14号深圳市生物医药创新产业园区1
号楼604区域

(72)发明人 卢岳军 陈雪 仇家舟 王朝阳
陈晶晶

(74)专利代理机构 广东前海律师事务所 44323
代理人 张绍波 何凯威

(51)Int.Cl.
G01N 33/573(2006.01)
G01N 33/531(2006.01)

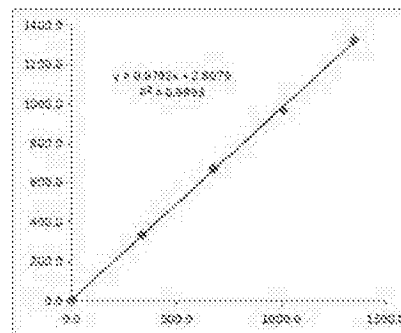
权利要求书2页 说明书8页 附图1页

(54)发明名称

基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒及其制备方法

(57)摘要

本发明提供一种基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒及其制备方法,其中所述试剂盒包括反应液和胶乳抗体试剂,所述胶乳抗体试剂包括至少两种通过单抗与胶乳微球偶联而成的胶乳抗体。所述制备方法为:筛选出特异性较强的Lp-PLA2单抗,将多种单抗混合代替多抗进行胶乳偶联,得到胶乳抗体,再配制反应液,最后将胶乳抗体和反应液组成试剂盒,用于测定Lp-PLA2的含量。通过本发明所述制备方法制备出的试剂盒,可以同时提高胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2时的灵敏度和特异性,使得试剂盒的线性范围更宽,准确性更高,其具有极高的经济价值和广阔的市场应用前景。



1. 一种基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒,其特征在于,所述试剂盒包括:

反应液和胶乳抗体试剂;

其中,所述反应液包括缓冲液、无机盐、增浊剂和防腐剂中的一种或几种;所述胶乳抗体试剂包括至少两种通过单抗混合后与胶乳微球偶联而成的胶乳抗体。

2. 根据权利要求1所述基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒,其特征在于,在反应液中,所述缓冲液包括磷酸盐缓冲液、甘氨酸-氢氧化钠缓冲液、三羟甲基氨基甲烷缓冲液或4-羟乙基哌嗪乙磺酸缓冲液中的任一种;所述无机盐包括氯化钠、氯化钾、氯化镁、硫酸钠和/或硫酸镁中的一种或几种;所述增浊剂包括聚乙二醇2000、聚乙二醇4000、聚乙二醇6000和/或聚乙二醇8000中的一种或几种。

3. 根据权利要求1所述基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒,其特征在于,所述胶乳微球的粒径范围为50-300nm。

4. 一种基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

A、量取固含量为10%的胶乳微球,加至缓冲液中,离心,去上清,用缓冲液对胶乳微球沉淀物重悬,加入碳二亚胺和N-羟基丁二酰亚胺,活化;再次离心,去上清,用缓冲液对胶乳微球沉淀物重悬,制得活化后的胶乳微球;

B、取至少两种单抗,并进行混合,制得含有多种单抗的抗体;

C、将上述制得的胶乳微球和抗体按特定比例混合均匀,并进行偶联,制得偶联后的胶乳抗体;

D、向胶乳抗体中加入封闭液进行封闭,再进行离心,去上清,用保存液对胶乳抗体沉淀物进行重悬,制得胶乳抗体试剂;

E、称取缓冲液、无机盐、增浊剂和防腐剂,制得反应液,并将反应液和胶乳抗体试剂组成用于测定Lp-PLA2含量的试剂盒。

5. 根据权利要求4所述基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒的制备方法,其特征在于,在步骤A,所述缓冲液包括磷酸盐缓冲液、甘氨酸-氢氧化钠缓冲液、三羟甲基氨基甲烷缓冲液或4-羟乙基哌嗪乙磺酸缓冲液中的任一种。

6. 根据权利要求4所述基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒的制备方法,其特征在于,在步骤D中,所述封闭液包括小牛血清白蛋白、明胶和/或酪蛋白中一种或几种。

7. 根据权利要求5所述基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒的制备方法,其特征在于,在步骤D中,所述保存液包括缓冲液、赋形剂、稳定剂、表面活性剂和防腐剂;其中,所述赋形剂包括海藻糖、蔗糖、麦芽糖和/或甘露醇中的一种或者几种;所述稳定剂包括小牛血清白蛋白、明胶和/或酪蛋白中的一种或几种;所述表面活性剂包括吐温-20、曲拉通X-100和/或十六烷基-3-甲基氯化铵中的一种或几种;所述防腐剂包括Proclin300和/或叠氮钠中的一种或几种。

8. 根据权利要求4所述基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒的制备方法,其特征在于,在步骤D中,所述反应液中,所述缓冲液包括磷酸盐缓冲液、甘氨酸-氢氧化钠缓冲液、三羟甲基氨基甲烷缓冲液或4-羟乙基哌嗪乙磺酸缓冲液中的任一种;所述无机盐包括氯化钠、氯化钾、氯化镁、硫酸钠和/或硫酸镁中的一种或几种;所述增浊剂包括聚乙二醇

2000、聚乙二醇4000、聚乙二醇6000和/或聚乙二醇8000中的一种或几种；所述防腐剂包括Proclin300或叠氮钠中的任一种。

9. 根据权利要求4所述基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒的制备方法，其特征在于，在步骤C中，不同的单抗，其特定比例有所不同。

基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及生物检测试剂制备领域,尤其涉及一种基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒及其制备方法。

背景技术

[0002] 心脑血管疾病是心脏血管和脑血管的疾病统称,心脑血管疾病具有“发病率高、致残率高、死亡率高、复发率高,并发症多”即“四高一多”的特点。目前,国内外指南均建议采用传统危险因素为基础的模型预测动脉粥样硬化性心血管疾病的短期和长期风险。但是,仅采用传统危险因素仍存在不足。因此,生物标志物被认为是传统危险评估的重要补充手段。

[0003] 血浆脂蛋白相关磷脂酶A2(lipoprotein-associated phospholipase A2,简称Lp-PLA2)是新近出现的一种具有强烈促炎症作用的生物学标记物,可作为反映动脉粥样硬化斑块炎症及血栓形成事件的高度准确的独立风险因子,同时还可作为一种急性动脉粥样硬化性血栓复发事件高风险患者的准确风险评估标志物。目前,已上市的Lp-PLA2测定试剂盒按检测方法分类,主要是酶联免疫法、酶法、免疫荧光层析法和胶乳免疫比浊法。上述检测方法中,酶联免疫法的操作繁琐,反应时间长(大于1.5小时);酶法的灵敏度和特异性不高;免疫荧光层析法的精密度较差(CV>10%),无法满足医院的检测精密度高、自动化程度高、TAT时间短等需求。

[0004] 而胶乳增强免疫比浊法可以应用于全自动生化分析仪,具有自动化程度高、操作简便、检测时间短等优点。但是,为了提升灵敏度,胶乳增强免疫比浊法一般采用多抗进行标记,特异性不强,也即检测结果的准确性不高,严重阻碍了该方法的推广。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供一种基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒及其制备方法,旨在解决现有技术中采用胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2时特异性较差和灵敏度不高的问题。

[0006] 本发明的技术方案包括:

[0007] 一种基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒,包括:反应液和胶乳抗体试剂;其中,所述反应液包括缓冲液、无机盐、增浊剂和防腐剂中的一种或几种;所述胶乳抗体试剂包括至少两种通过单抗与胶乳微球偶联而成的胶乳抗体。

[0008] 所述基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒,其中,在反应液中,所述缓冲液包括磷酸盐缓冲液、甘氨酸-氢氧化钠缓冲液、三羟甲基氨基甲烷缓冲液或4-羟乙基哌嗪乙磺酸缓冲液中的任一种;所述无机盐包括氯化钠、氯化钾、氯化镁、硫酸钠和/或硫酸镁中的一种或几种;所述增浊剂包括聚乙二醇2000、聚乙二醇4000、聚乙二醇6000和/或聚乙二醇8000中的一种或几种;所述防腐剂包括Proclin300或叠氮钠中的任一种。

[0009] 所述基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒,其中,所述胶乳微球的粒径范围为50-300nm。

[0010] 一种基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒的制备方法,其中,包括以下步骤:

[0011] A、量取固含量为10%的胶乳微球,加至缓冲液中,离心,去上清,用缓冲液对胶乳微球沉淀物重悬,加入碳二亚胺和N-羟基丁二酰亚胺,活化;再次离心,去上清,用缓冲液对胶乳微球沉淀物重悬,制得活化后的胶乳微球;

[0012] B、取至少两种单抗,并进行混合,制得含有多种单抗的抗体;

[0013] C、将上述制得的胶乳微球和抗体按特定比例混合均匀,并进行偶联,制得偶联后的胶乳抗体;

[0014] D、向胶乳抗体中加入封闭液进行封闭,再进行离心,去上清,用保存液对胶乳抗体沉淀物进行重悬,制得胶乳抗体试剂;

[0015] E、称取缓冲液、无机盐、增浊剂和防腐剂,制得反应液,并将反应液和胶乳抗体试剂组成用于测定Lp-PLA2含量的试剂盒。

[0016] 所述基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒的制备方法,其中,所述缓冲液包括磷酸盐缓冲液、甘氨酸-氢氧化钠缓冲液、三羟甲基氨基甲烷缓冲液或4-羟乙基哌嗪乙磺酸缓冲液中的任一种。

[0017] 所述基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒的制备方法,其中,所述封闭液包括小牛血清白蛋白、明胶和/或酪蛋白中一种或几种。

[0018] 所述基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒的制备方法,其中,所述保存液包括缓冲液、赋形剂、稳定剂、表面活性剂和防腐剂;其中,所述赋形剂包括海藻糖、蔗糖、麦芽糖和/或甘露醇中的一种或者几种;所述稳定剂包括小牛血清白蛋白、明胶和/或酪蛋白中的一种或几种;所述表面活性剂包括吐温-20、曲拉通X-100和/或十六烷基-3-甲基氯化铵中的一种或几种;所述防腐剂包括Proclin300和/或叠氮钠中的一种或几种。

[0019] 所述基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒的制备方法,其中,在所述反应液中,所述缓冲液包括磷酸盐缓冲液、甘氨酸-氢氧化钠缓冲液、三羟甲基氨基甲烷缓冲液或4-羟乙基哌嗪乙磺酸缓冲液中的任一种;所述无机盐包括氯化钠、氯化钾、氯化镁、硫酸钠和/或硫酸镁中的一种或几种;所述增浊剂包括聚乙二醇2000、聚乙二醇4000、聚乙二醇6000和/或聚乙二醇8000中的一种或几种;所述防腐剂包括Proclin300或叠氮钠中的任一种。

[0020] 所述基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒的制备方法,其中,在步骤C中,不同的单抗,其特定比例有所不同。

[0021] 有益效果:本发明公开了一种基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒及其制备方法,主要步骤为:筛选出特异性较强的Lp-PLA2单抗,将多种单抗混合代替多抗进行胶乳偶联,得到胶乳抗体;再配制反应液;最后将胶乳抗体和反应液组成试剂盒,用于测定Lp-PLA2的含量。通过本发明所述制备方法制备出的试剂盒,可以同时提高检测的灵敏度和特异性,使得试剂盒的线性范围更宽,准确性更高,更好地满足了临床需求。

附图说明

[0022] 图1为本发明具体实施例中所述Lp-PLA2的线性范围曲线。

具体实施方式

[0023] 在胶乳增强免疫比浊法应用中,采用多抗进行标记可以有效提高灵敏度,但会造成特异性不强,使检测结果准确度下降的问题。而采用单抗对胶乳进行标记可以使特异性提高,但灵敏度又会受影响。针对上述问题,本发明中通过采用多个特异性较强的单抗,混合后对胶乳微球进行标记,使得在保持灵敏度的情况下特异性也较强。

[0024] 以下将结合附图对本发明所述基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒及其制备方法进行详细描述如下:

[0025] 本发明一种基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒,其包括:反应液和胶乳抗体试剂;其中,所述反应液包括缓冲液、无机盐、增浊剂和防腐剂中的一种或几种。所述胶乳抗体试剂包括至少两种通过单抗与胶乳微球偶联而成的胶乳抗体;换言之,本发明实施例中所述胶乳抗体试剂是采用多种特异性较强的单抗混合后,与胶乳微球进行偶联得到。进一步地,所述胶乳微球的粒径范围为50-300nm,优选粒径为258nm。

[0026] 具体地,在本发明所述反应液中,所述缓冲液包括磷酸盐缓冲液、甘氨酸-氢氧化钠缓冲液、三羟甲基氨基甲烷缓冲液(又称Tris-缓冲液)、或4-羟乙基哌嗪乙磺酸缓冲液(又称HEPES缓冲液)中的任一种。所述无机盐包括氯化钠、氯化钾、氯化镁、硫酸钠和/或硫酸镁中的一种或几种。所述增浊剂包括聚乙二醇2000(指的是平均分子量为2000的聚乙二醇)、聚乙二醇4000(指的是平均分子量为4000的聚乙二醇)、聚乙二醇6000(指的是平均分子量为6000的聚乙二醇)和/或聚乙二醇8000(指的是平均分子量为8000的聚乙二醇)中的一种或几种。所述防腐剂包括Proclin300或叠氮钠中的任一种,加入防腐剂的主要作用在于抑制细菌的产生。其中所述Proclin300为液体生物防腐剂,其可作为诊断试剂或产品中控制微生物含量的高效灭菌剂;叠氮化钠又称三氮化钠,其化学式 NaN_3 ,可作为细胞培养中的防菌剂。

[0027] 另外,本发明还提供一种基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒的制备方法,其包括以下步骤:

[0028] S100、量取固含量为10%的胶乳微球,加至缓冲液中,离心,去上清,用缓冲液对胶乳微球沉淀物重悬,加入碳二亚胺(又称EDC)和N-羟基丁二酰亚胺(又称NHS),活化。本发明中所述碳二亚胺和N-羟基丁二酰亚胺所添加的重量比为1:5-1:50;再次离心,去上清,用缓冲液对胶乳微球沉淀物重悬,制得活化后的胶乳微球。在步骤S100中主要有3个操作:离心去上清、活化、重悬。

[0029] S200、取至少两种单抗,并进行混合,制得含有多种单抗的抗体。在此步骤中,通过筛选特异性较强的多种单抗,将其混合,以代替多抗进行Lp-PLA2含量测定,可以有效提高测量的灵敏度和特异性。

[0030] S300、将上述制得的胶乳微球和抗体按特定比例混合均匀,并进行偶联,制得偶联后的胶乳抗体;其中,所述特定比例根据添加不同的单抗而有所不同,例如特定比例可以是1:9,3:7,5:5,7:3,9:1。本发明中各种组分所添加的比例指的是重量比。

[0031] S400、向胶乳抗体中加入封闭液(例如由10%BSA以及0.4M glycine/乙醇胺组成)进行封闭,再进行离心,去上清,用保存液对胶乳抗体沉淀物进行重悬,制得胶乳抗体试剂。

在此步骤中,所述封闭液包括小牛血清白蛋白、明胶和/或酪蛋白中一种或几种。所述保存液包括缓冲液、赋形剂、稳定剂、表面活性剂和防腐剂;其中,所述赋形剂包括海藻糖、蔗糖、麦芽糖和/或甘露醇中的一种或者几种;所述稳定剂包括小牛血清白蛋白、明胶和/或酪蛋白中的一种或几种;所述表面活性剂包括吐温-20(又称聚氧乙烯失水山梨醇单月桂酸酯)、曲拉通X-100(又称辛基苯基聚氧乙烯醚)和/或十六烷基-3-甲基氯化铵中的一种或几种;所述防腐剂包括Proclin300和/或叠氮钠中的一种或几种。

[0032] S500、称取缓冲液、无机盐、增浊剂和防腐剂,制得反应液,并将反应液和胶乳抗体试剂组成用于测定Lp-PLA2含量的试剂盒。

[0033] 在上述各个步骤中,所述缓冲液具体包括磷酸盐缓冲液、甘氨酸-氢氧化钠缓冲液、三羟甲基氨基甲烷缓冲液或4-羟乙基哌嗪乙磺酸缓冲液中的任一种。

[0034] 本发明采用上述制备方法所制备出的试剂盒用于测定人血清中Lp-PLA2的含量,其测量原理如下:

[0035] 样品中的Lp-PLA2与试剂中抗Lp-PLA2抗体包被的胶乳颗粒悬液发生凝集反应,形成抗原-抗体-胶乳复合物而产生浊度,其浊度的高低在过量抗体存在时与样品中Lp-PLA2成正比。通过测定特定波长的吸光度值,参照校准曲线即可计算出样本中Lp-PLA2的含量。

具体实施方式

[0036]

[0037] 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。此外应理解,在阅读了本发明的内容之后,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后权利要求书限定的范围。

[0038] 一、Lp-PLA2试剂R1(即反应液)的制备:

[0039] 按下列表1中的配比准确称量化学物质,置于装有0.9L纯水的烧杯中,搅拌混匀后,使用1mol/L的稀盐酸调节pH值至 7.20 ± 0.05 ,将溶液转移至1L容量瓶中定容,用0.22微米滤膜过滤溶液,用玻璃容器保存配好的溶液,贴上标签,置于2~8℃下存放。

[0040]

表 1 反应液配方	
三羟甲基氨基甲烷 (Tris)	6.057g
聚乙二醇 6000(PEG6000)	50.000g
氯化钠 (NaCl)	23.376g
液体生物防腐剂(ProClin 300)	1mL
纯水	1L
pH	7.20

[0041] 二、Lp-PLA2试剂R2即胶乳抗体的制备:

[0042] 1. 洗涤:取50μL的微球(ACME 258nm)加入450mL的2-(N-吗啡啉)-乙磺酸(又称

MES;50mM,pH 6.5) 洗涤,离心(40000G离心力,30min)去上清用500uL的MES复溶,并超声震荡4次/每次10s。

[0043] 2.活化:用EDC和S-NHS(比例为2 μ L:6.25 μ L)进行活化(EDC的浓度为10mg/mL,S-NHS的浓度为50mg/mL),先加入EDC,再加入S-NHS,室温震荡活化20min,40000G离心30min,用50mM HEPES(pH7.5)复溶,超声震荡4次/每次10s。

[0044] 3.偶联:将两个Lp-PLA2单抗按1:9的比例混合,取适量混合单抗加入50mM MES(pH 6.5)溶液,使终体积为500uL,然后加入等体积的微球(500uL),置于摇床中进行偶联,室温偶联3h。

[0045] 4.封闭:加入111 μ L封闭液,在摇床上封闭1h.40000G离心,去上清。

[0046] 5.清洗:用清洗液洗涤沉淀2次,离心去上清。

[0047] 6.重悬:沉淀加入1mL胶乳稀释液(50mM Tris+1%BSA+0.005%SDS+0.1%Procling300,pH为7.2)进行重悬,置于2-8 $^{\circ}$ C环境下保存。

[0048] 三、测试方法

[0049] 检测仪器:OlympusAU400全自动生化分析仪;

[0050] 温度:37 $^{\circ}$ C;比色杯光径:1cm;

[0051] 分析方法:两点终点法(取第12点吸光度和第27点吸光度),主波长:600nm;

[0052] 试剂量:S:R1:R2=10uL:180uL:60uL(其中S为人血清,R1为反应液,R2为胶乳抗体);

[0053] 本发明所述试剂盒的使用步骤请参见如下表1:

[0054] 表2生化仪参数

[0055]

	空白管 (B) 单 位: μ l	标准管 (H) 单位: μ l	测定管 (T) 单位: μ l
反应液 R1	180 μ l	180 μ l	180 μ l
纯化水	10 μ l	-	-
校准品	-	10 μ l	-
样本	-	-	10 μ l
混匀, 37 $^{\circ}$ C 孵育 5 分钟, 再加入			
胶乳抗体 R2	60 μ l	60 μ l	60 μ l
混匀, 37 $^{\circ}$ C 孵育 30s, 读取各管吸光度 A1, 再孵育 4.5 分钟, 读取 各管吸光度 A2, 计算 $\Delta A=A2-A1$			

[0056] 校准方式为样条函数Spline.采用多点校准模式,用纯化水为零点,依次对校准品进行定标测定,建立工作曲线。

[0057] 计算方法:以校准品浓度对相应 ΔA 拟合校准曲线,样本浓度值通过校准曲线得

出。

[0058] 四、试剂盒性能评价

[0059] 1) 线性

[0060] 用接近线性区间下限的低浓度样本稀释接近线性区间上限的高浓度样本,混合成5个稀释浓度(Xi)。用试剂盒分别测试以上样本,每个稀释浓度测试3次,分别求出每个稀释浓度检测结果的均值(Yi)。以稀释浓度(Xi)为自变量,以检测结果均值(Yi)为因变量求出线性回归方程,计算线性回归的相关系数r,计算公式为:

$$[0061] \quad r = \frac{\sum X_i Y_i - (\sum X_i \sum Y_i) / n}{\sqrt{[\sum X_i^2 - (\sum X_i)^2 / n][\sum Y_i^2 - (\sum Y_i)^2 / n]}}$$

[0062] 线性评价结果如下:

[0063] 表3线性评价结果

[0064]

样本号	稀释浓度 (ng/mL)	测试 1(ng/mL)	测试 2 (ng/mL)	测试 3 (ng/mL)	平均值 (ng/mL)
1	0.9	2.1	-1.8	0.7	0.3
2	337.9	347.8	342.3	312	334.0
3	674.8	642.1	682.8	684.3	669.7
4	1011.8	941.4	995.3	953.1	963.3
5	1348.7	1277.6	1324.1	1359.2	1320.3

[0065] 如图1所示,本试剂盒的直线拟合曲线为: $y=0.9702x+2.8079$, $r=0.9997$, $r>0.990$,满足临床需求。

[0066] 2)、精密度

[0067] ①重复性:用同一批次的试剂盒测试低值、高值两个水平的Lp-PLA2校准品,重复测试10次,计算10次测试结果平均值(M)和标准差(SD),计算测量结果的变异系数(CV),计

算公式为: $CV = \frac{SD}{M} \times 100\%$ 。结果如下:

[0068]

测试数	低值工作校准品 (ng/mL)	高值工作校准品 (ng/mL)
1	53.1	861.4
2	55.6	940.2
3	50.6	923.9
4	56.5	869.1
5	54.7	939.6
6	53.5	941.2
7	52.3	866.3
8	55.5	866.4
9	49.3	893.1
10	53.5	965.7
平均值	53.46	906.69
SD	2.27	39.55
CV(%)	4.25%	4.36%

[0069] 由检测结果可以看出,低值水平的变异系数为4.25%,高值水平的变异系数为4.36%。均于10%,满足临床需求。

[0070] ②准确度:试剂盒测试高值、中值、低值三个水平的Lp-PLA2校准品,每个浓度测试3次,计算相对偏差(B),公式为: $B = \frac{M - T}{T} \times 100\%$,其中M为3次测定结果的均值,T为标准品的标示浓度。

测试数	低值工作校准品 (ng/mL)	中值工作校准品 (ng/mL)	高值工作校准品 (ng/mL)
1	53.9	409.6	927.4
2	54.6	400.0	881.8
3	57.4	405.6	930.2
平均值	55.3	405.1	913.1
靶值	52.8	415.2	886.5
相对偏差(%)	4.73%	-2.44%	3.00%

[0071]

[0072] 从检测结果可以看出：低值水平的相对偏差为4.73%，中值水平的相对偏差为-2.44%，高值水平的相对偏差为3.00%。均在±10%的范围内，满足临床需求。

[0073] 综上所述，本发明提供一种基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒及其制备方法，能有效提升Lp-PLA2检测试剂的灵敏度和特异性。本发明采用了创新的胶乳偶联技术，通过对多种单克隆抗体进行标记来制备测定Lp-PLA2的试剂盒，实现全自动检测，并且能有效提升检测的灵敏度和特异性，具有极高的经济价值和广阔的市场应用前景。

[0074] 应当理解的是，上述针对具体实施例的描述较为详细，并不能因此而认为是对本发明专利保护范围的限制，本发明的专利保护范围应以所附权利要求为准。

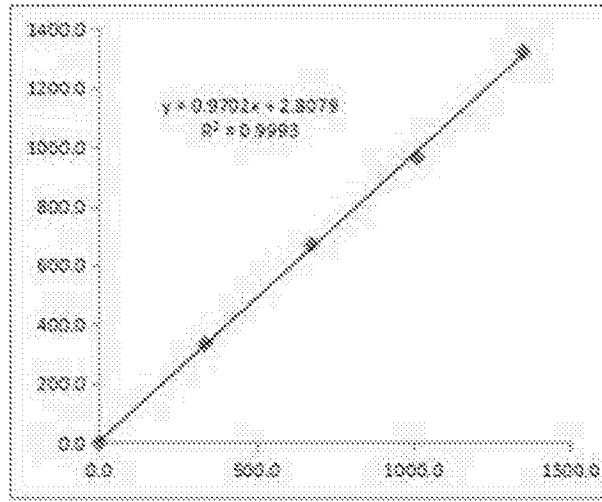


图1

专利名称(译)	基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒及其制备方法		
公开(公告)号	CN108008130A	公开(公告)日	2018-05-08
申请号	CN201711190758.6	申请日	2017-11-24
申请(专利权)人(译)	海格德生物科技(深圳)有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	海格德生物科技(深圳)有限公司		
[标]发明人	卢岳军 陈雪 仇家舟 王朝阳 陈晶晶		
发明人	卢岳军 陈雪 仇家舟 王朝阳 陈晶晶		
IPC分类号	G01N33/573 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/573 G01N33/531 G01N2333/916 G01N2800/226 G01N2800/323		
代理人(译)	张绍波		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供一种基于胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2的试剂盒及其制备方法，其中所述试剂盒包括反应液和胶乳抗体试剂，所述胶乳抗体试剂包括至少两种通过单抗与胶乳微球偶联而成的胶乳抗体。所述制备方法为：筛选出特异性较强的Lp-PLA2单抗，将多种单抗混合代替多抗进行胶乳偶联，得到胶乳抗体，再配制反应液，最后将胶乳抗体和反应液组成试剂盒，用于测定Lp-PLA2的含量。通过本发明所述制备方法制备出的试剂盒，可以同时提高胶乳增强免疫比浊法测定Lp-PLA2时的灵敏度和特异性，使得试剂盒的线性范围更宽，准确性更高，其具有极高的经济价值和广阔的市场应用前景。

