



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101949945 A

(43) 申请公布日 2011.01.19

(21) 申请号 201010243065.0

G01N 33/535(2006.01)

(22) 申请日 2010.08.03

(71) 申请人 郑州安图绿科生物工程有限公司

地址 450016 河南省郑州市经济技术开发区
第五大街经北一路 87 号

(72) 发明人 靳增明 陈晓玲 付光宇 渠海
马建军 项立红 吴学炜 苗拥军

(74) 专利代理机构 郑州异开专利事务所(普通合伙) 41114

代理人 王霞

(51) Int. Cl.

G01N 33/78(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

权利要求书 2 页 说明书 5 页

(54) 发明名称

以磁性微粒为固相载体检测游离甲状腺素的试剂盒及其制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种以磁性微粒为固相载体检测游离甲状腺素的试剂盒,包括偶联有三碘甲状腺原氨酸-明胶复合物的磁微粒混悬液;游离甲状腺素系列校准品;辣根过氧化物酶标记的抗甲状腺素抗体溶液;发光底物 A 液和 B 液和浓缩洗液。本发明还公开了该试剂盒的制备方法。本发明的优点在于采用磁微粒化学发光法结合了磁微粒固相偶联技术,无磁场存在时,磁性微粒悬浮在液体中,抗原抗体反应类似于均相反应;磁性微粒在外加磁场的作用下方便分离,洗涤快速,做为免疫学载体,可提高检测的精密性、稳定性。本试剂盒组成简单,操作方便,结果稳定可靠,相对市面上的酶联免疫试剂盒和板式化学发光试剂盒,反应时间仅为其 1/8-1/4 的时间。

1. 一种以磁性微粒为固相载体检测游离甲状腺素的试剂盒,其特征在于:它包括:偶联有三碘甲状腺原氨酸-明胶复合物的磁微粒混悬液;游离甲状腺素系列校准品;辣根过氧化物酶标记的抗甲状腺素抗体溶液;发光底物 A 液和 B 液和浓缩洗液。

2. 根据权利要求 1 所述的以磁性微粒为固相载体检测游离甲状腺素的试剂盒,其特征在于:所述游离甲状腺素系列校准品以去甲状腺素血清或分析缓冲液为校准品基质,加入甲状腺素纯品配制而成。

3. 根据权利要求 1 所述的以磁性微粒为固相载体检测游离甲状腺素的试剂盒,其特征在于:所述抗甲状腺素抗体为鼠抗甲状腺素单克隆抗体。

4. 根据权利要求 1 所述的以磁性微粒为固相载体检测游离甲状腺素的试剂盒,其特征在于:所述发光底物 A 液由 luminol 0.15mM、羟基香豆素 0.59mM、没食子酸 0.35mM、pH 9.4 的 Tris-HCl 缓冲液 0.2M 组成;发光底物 B 液由氨基酸氧化酶 0.85mM、吐温-200.8% v/v、二乙烯三胺五乙酸 0.5mM、维生素 C 0.12mM、pH 6.5 的乙酸-乙酸盐缓冲液 0.2M 组成。

5. 根据权利要求 1 所述的以磁性微粒为固相载体检测游离甲状腺素的试剂盒,其特征在于:所述浓缩洗液由 0.1M 磷酸盐缓冲液和 1% Tween-20 组成。

6. 根据权利要求 1 所述的以磁性微粒为固相载体检测游离甲状腺素的试剂盒的制备方法,其特征在于:包括下述步骤:

第一步,偶联有三碘甲状腺原氨酸-明胶复合物的磁微粒混悬液的制备

三碘甲状腺原氨酸-明胶复合物的制备:将 5mg 三碘甲状腺原氨酸溶于 1ml 二甲基甲酰胺中,加入 2ml 45% 的明胶溶液,震荡混匀,然后加入 1.5mg 碳二亚胺,随后将 0.5ml 50mg/ml 碳二亚胺溶液加入,反应于室温振荡条件下;在 0.05M pH7.4 磷酸盐缓冲液中充分透析,透析完毕加入等比例甘油,储存于 -20°C 备用;

偶联有三碘甲状腺原氨酸-明胶复合物的磁微粒混悬液的制备:取磁性微粒,用 0.02M pH7.6 磷酸盐缓冲溶液清洗;将浓度 25% 的戊二醛按体积比 1:10 溶解到含有上述带有磁性微粒的磷酸盐缓冲溶液中,室温振荡反应后,用 0.02M pH7.6 磷酸盐缓冲溶液清洗,去除多余的戊二醛;按照 100ul 0.02M pH7.6 磷酸盐缓冲溶液/3mg 磁微粒的比例加入 0.02M pH7.6 磷酸盐缓冲溶液,按照 5-20ul/3mg 磁微粒之比例加入上述三碘甲状腺原氨酸-明胶复合物,室温振荡反应;用 pH7.4-7.6,含 1% 牛血清白蛋白,0.01%-0.02% 的叠氮钠的磷酸盐缓冲液洗涤 3-5 次,每次室温振荡 5-15 分钟;用 pH 7.4-7.6,含 1% 牛血清白蛋白,0.01%-0.02% 的叠氮钠的磷酸盐缓冲液将偶联有三碘甲状腺原氨酸-明胶复合物的磁微粒混悬液稀释至 0.5-1mg/ml 的工作液;

第二步,游离甲状腺素系列校准品的制备

用去甲状腺素人血清稀释甲状腺素高值抗原溶液,配制标定后的系列浓度为 0pmol/L、5pmol/L、10pmol/L、25pmol/L、50pmol/L、100pmol/L;

第三步,辣根过氧化物酶标记的抗甲状腺素抗体溶液的制备

采用过碘酸钠法将抗甲状腺素抗体与辣根过氧化物酶共价偶联在一起,制备成辣根过氧化物酶标记的抗甲状腺素抗体,使用时用缓冲液稀释至工作浓度配制而成;

第四步,发光底物 A 液和发光底物 B 液的配制

发光底物 A 液:由 luminol 0.15mM、羟基香豆素 0.59mM、没食子酸 0.35mM、pH 9.4 的 Tris-HCl 缓冲液 0.2M 配制而成;发光底物 B 液由氨基酸氧化酶 0.85mM、吐温-200.8% v/v

v、二乙烯三胺五乙酸 0.5mM、维生素 C 0.12mM、pH 6.5 的乙酸 - 乙酸盐缓冲液 0.2M 配制而成。

第五步, 浓缩洗液的制备

浓缩洗液由 0.1M 磷酸盐缓冲液和 1% Tween-20 配制而成。

以磁性微粒为固相载体检测游离甲状腺素的试剂盒及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及临床免疫检测技术,尤其是涉及一种以磁性微粒为固相载体检测游离甲状腺素的试剂盒,本发明还涉及该试剂盒的制备方法。

背景技术

[0002] 甲状腺素(T₄)是由甲状腺滤泡上皮细胞合成和分泌的甲状腺激素,其结构由一个酪氨酸残基和一个酚环组成,与三碘甲腺原氨酸(T₃)的区别仅在于多一个碘原子。正常人平均每日的T₄分泌量为 $90 \pm 9 \mu\text{g}$,约为甲状腺内贮存量的1%。T₄进入血液循环后约99.96%与结合蛋白结合,其中约60%与TBG结合,30%与TBPA结合,其余与白蛋白结合。结合T₄与游离T₄之间呈可逆的平衡状态。结合状态的甲状腺素不能发挥其生理功能,而只有游离T₄方能进入靶细胞与T₄受体结合并发挥其生理功能。甲状腺外T₄的循环总量为 $900 \mu\text{g}$,半衰期为7天。T₄是具有生物活性的甲状腺激素,能促进糖、脂肪、蛋白质代谢,产生能量和热,并促进生长发育。近年来有人认为T₄是T₃的前激素,是其储备形式。血清中总的T₄称为总T₄(TT₄),游离部分的T₄称为游离T₄(fT₄)。

[0003] 由于fT₄的测定不受血清结合蛋白含量的影响,因此是反映甲状腺功能的灵敏指标。检测血清中呈游离状态的甲状腺素,最能直接反映甲状腺功能状态,并且不受血中甲状腺素结合球蛋白浓度和结合力改变及其它含碘杂质的影响,其敏感性和特异性均明显超过总T₄。

[0004] 各种原因所致的甲低病例中,fT₄均显著低于正常范围。但妊娠36周以后fT₄呈正常生理性降低;而亚急性甲状腺炎和慢性淋巴性甲状腺炎早期、甲状腺素不敏感综合症以及大量服用甲状腺激素后fT₄亦增高。非甲状腺疾病在病情严重时总T₄降低,但fT₄不降低。对孕妇等常合并有TBG变化的甲亢病人,fT₄的测定尤为重要。脐带血fT₄的测定,是早期诊断新生儿甲低的一个可靠性指标。

[0005] 甲状腺素为小分子物质,免疫分析采用竞争法测定,在测定游离甲状腺素时,酶标记抗原会和待测物一样与血清中的蛋白结合,使参与免疫反映的标记物减少,从而导致测定结果错误。游离甲状腺素的测定,关键在于尽可能避免标记物与蛋白的结合。酶联免疫分析法测定游离激素的主要方法有:(1)包被抗T₄抗体,标记T₄抗原法,如上文所述酶标记抗原会和待测物一样与血清中的蛋白结合,特别是当血清中结合蛋白异常时,往往导致测定结果的错误;(2)包被T₄抗体,标记T₄的抗原类似物(一般为T₃),虽然较方法(1)有较大的进步,但仍然有其弊端,特别是在类似物结合蛋白浓度异常时,往往导致错误的结果;(3)包被抗原类似物(T₃),标记抗T₄抗体法,将抗原类似物连接在固相载体上,进一步减少了与血清中结合蛋白的结合,降低了干扰,测定结果较方法(2)更为准确可靠。

发明内容

[0006] 本发明的目的在于提供一种采用包被抗原类似物的衍生物的方法快速、灵敏、准

确的以磁性微粒为固相载体检测游离甲状腺素的试剂盒,本发明还提供该试剂盒的制备方法。

[0007] 为实现上述目的,本发明可采取下述技术方案:

[0008] 本发明所述的以磁性微粒为固相载体检测游离甲状腺素的试剂盒,包括偶联有三碘甲状腺原氨酸-明胶复合物的磁微粒混悬液;游离甲状腺素系列校准品;辣根过氧化物酶标记的抗甲状腺素抗体溶液;发光底物 A 液和 B 液和浓缩洗液。

[0009] 所述游离甲状腺素系列校准品以去甲状腺素血清或分析缓冲液为校准品基质,加入甲状腺素纯品配制而成。

[0010] 所述抗甲状腺素抗体为鼠抗甲状腺素单克隆抗体。

[0011] 所述发光底物 A 液由 luminol 0.15mM、羟基香豆素 0.59mM、没食子酸 0.35mM、pH 9.4 的 Tris-HCl 缓冲液 0.2M 组成;发光底物 B 液由氨基酸氧化酶 0.85mM、吐温-200.8% v/v、二乙烯三胺五乙酸 0.5mM、维生素 C 0.12mM、pH 6.5 的乙酸-乙酸盐缓冲液 0.2M 组成。

[0012] 所述浓缩洗液由 0.1M 磷酸盐缓冲液和 1% Tween-20 组成。

[0013] 本发明以磁性微粒为固相载体检测游离甲状腺素的试剂盒的制备方法,包括下述步骤:

[0014] 第一步,偶联有三碘甲状腺原氨酸-明胶复合物的磁微粒混悬液的制备。

[0015] 三碘甲状腺原氨酸-明胶复合物的制备:将 5mg 三碘甲状腺原氨酸溶于 1ml 二甲基甲酰胺中,加入 2ml 45% 的明胶溶液,震荡混匀,然后加入 1.5mg 碳二亚胺,随后将 0.5ml 50mg/ml 碳二亚胺溶液加入,反应于室温振荡条件下;在 0.05M pH7.4 磷酸盐缓冲液中充分透析,透析完毕加入等比例甘油,储存于 -20°C 备用;

[0016] 偶联有三碘甲状腺原氨酸-明胶复合物的磁微粒混悬液的制备:取磁性微粒,用 0.02M pH7.6 磷酸盐缓冲溶液清洗;将浓度 25% 的戊二醛按体积比 1:10 溶解到含有上述带有磁性微粒的磷酸盐缓冲溶液中,室温振荡反应后,用 0.02M pH7.6 磷酸盐缓冲溶液清洗,去除多余的戊二醛;按照 100 μ l 0.02M pH7.6 磷酸盐缓冲溶液/3mg 磁微粒的比例加入 0.02M pH7.6 磷酸盐缓冲溶液,按照 5-20 μ l/3mg 磁微粒之比加入上述三碘甲状腺原氨酸-明胶复合物,室温振荡反应;用 pH7.4-7.6,含 1% 牛血清白蛋白 (W/V),0.01%-0.02% 的叠氮钠的磷酸盐缓冲液洗涤 3-5 次,每次室温振荡 5-15 分钟;用 pH 7.4-7.6,含 1% 牛血清白蛋白 (W/V),0.01%-0.02% 的叠氮钠的磷酸盐缓冲液将甲状腺素牛血清白蛋白衍生物的磁微粒混悬液稀释至 0.5-1mg/ml 的工作液;

[0017] 第二步,游离甲状腺素系列校准品的制备

[0018] 用去甲状腺素人血清稀释甲状腺素高值抗原溶液,配制标定后的系列浓度为 0pmol/L、5pmol/L、10pmol/L、25pmol/L、50pmol/L、100pmol/L;

[0019] 第三步,辣根过氧化物酶标记的抗甲状腺素抗体溶液的制备

[0020] 采用过碘酸钠法将抗甲状腺素抗体与辣根过氧化物酶共价偶联在一起,制备成辣根过氧化物酶标记的抗甲状腺素抗体,使用时用缓冲液稀释至工作浓度配制而成;

[0021] 第四步,发光底物 A 液和发光底物 B 液的配制

[0022] 发光底物 A 液:由 luminol 0.15mM、羟基香豆素 0.59mM、没食子酸 0.35mM、pH 9.4 的 Tris-HCl 缓冲液 0.2M 配制而成;发光底物 B 液由氨基酸氧化酶 0.85mM、吐温-200.8% v/v、二乙烯三胺五乙酸 0.5mM、维生素 C 0.12mM、pH 6.5 的乙酸-乙酸盐缓冲液 0.2M 配制

而成。

[0023] 第五步,浓缩洗液的制备

[0024] 浓缩洗液由 0.1M 磷酸盐缓冲液和 1% Tween-20 配制而成。

[0025] 本发明的优点在于采用的磁微粒化学发光法结合了磁微粒固相偶联技术,在酶联免疫分析的基础上结合化学发光信号放大技术,是利用辣根过氧化物酶催化发光底物,则发光底物发生化学反应并释放出大量的能量,产生激发态中间体。这种激发态中间体,当其回到稳定的基态时,可同时发射出光子,利用发光信号测量仪器即可测量出光量子产额,该光量子产额与样品中的待测物质的量成比例关系,由此可以建立校准曲线并计算出样品中待测物质的含量。磁性微粒是由超顺磁性纳米粒子,包括磁性金属如 Fe、Co、Ni 或其金属氧化物等,与高分子或无机材料等形成的一种胶态液体复合物,可通过表面的功能基团进行各种表面的功能化修饰;在外加磁场的作用下通过吸附、清洗、解吸等操作快速移动和分离,具有磁性分离简便、亲和吸附高特异性以及巨大表面积等优点。本发明检测试剂盒反应时间仅需 15 分钟,分析总耗时不超过 30 分钟,方便快捷,既适用于半自动高通量检测,也适用于全自动检测系统使用。

具体实施方式

[0026] 本发明所述的以磁性微粒为固相载体检测游离甲状腺素的试剂盒,包括偶联有甲状腺素的类似物的衍生物的磁微粒混悬液,所述磁微粒上偶联有三碘甲状腺原氨酸-明胶复合物;以去甲状腺素血清或分析缓冲液为校准品基质,加入甲状腺素纯品配制而成的游离甲状腺素系列校准品;辣根过氧化物酶标记的抗甲状腺素抗体溶液,抗甲状腺素抗体为鼠抗甲状腺素单克隆抗体;由 luminol 0.15mM、羟基香豆素 0.59mM、没食子酸 0.35mM、pH 9.4 的 Tris-HCl 缓冲液 0.2M 组成的发光底物 A 液和由氨基酸氧化酶 0.85mM、吐温-20 0.8% v/v、二乙烯三胺五乙酸 0.5mM、维生素 C 0.12mM、pH 6.5 的乙酸-乙酸盐缓冲液 0.2M 组成的发光底物 B 液;以及由 0.1M 磷酸盐缓冲液,1% Tween-20 组成的浓缩洗液。

[0027] 本发明以磁性微粒为固相载体检测游离甲状腺素的试剂盒的制备方法,包括下述步骤:

[0028] 第一步,偶联有三碘甲状腺原氨酸-明胶复合物的磁微粒混悬液的制备

[0029] 三碘甲状腺原氨酸-明胶复合物的制备:将 5mg 三碘甲状腺原氨酸溶于 1ml 二甲基甲酰胺中,加入 2ml 45% 的明胶溶液,震荡混匀,然后加入 1.5mg 碳二亚胺,随后将 0.5ml 50mg/ml 碳二亚胺溶液(溶于 0.05M 醋酸-醋酸钠溶液)分 3 次加入,每次间隔 1 小时,最后一次加入碳二亚胺溶液后继续反应 2 小时;在 0.05M PH7.4 磷酸盐缓冲液中充分透析,透析完毕加入等比例甘油,储存于 -20℃ 备用;

[0030] 偶联有三碘甲状腺原氨酸-明胶复合物的磁微粒混悬液的制备:取磁性微粒,用 0.02M PH7.6 磷酸盐缓冲溶液清洗 3~5 次;将浓度 25% 的戊二醛按体积比 1:10 溶解到含有上述带有磁性微粒的磷酸盐缓冲溶液中,室温振荡反应 15~60 分钟;用 0.02M PH7.6 磷酸盐缓冲溶液清洗两次,去除多余的戊二醛;按照 100u1 0.02M PH7.6 磷酸盐缓冲溶液/3mg 磁微粒的比例加入 0.02M PH7.6 磷酸盐缓冲溶液,按照 5-20u1/3mg 磁微粒之比例加入上述三碘甲状腺原氨酸-明胶复合物,室温振荡反应 1~3 小时;用 pH7.4-7.6,含 1% 牛血清白蛋白 (W/V),0.01%-0.02% 的叠氮钠的磷酸盐缓冲液洗涤 3~5 次,每次室温振荡

5-15 分钟;用 pH 7.4-7.6,含 1%牛血清白蛋白(W/V),0.01%-0.02%的叠氮钠的磷酸盐缓冲液将甲状腺素牛血清白蛋白衍生物的磁微粒混悬液稀释至 0.5~1mg/ml 的工作液;

[0031] 第二步,游离甲状腺素系列校准品的制备

[0032] 用去甲状腺素人血清稀释甲状腺素高值抗原溶液,配制标定后的系列浓度为 0pmol/L、5pmol/L、10pmol/L、25pmol/L、50pmol/L、100pmol/L;

[0033] 第三步,辣根过氧化物酶标记的抗甲状腺素抗体溶液的制备

[0034] 采用过碘酸钠法将抗甲状腺素抗体与辣根过氧化物酶共价偶联在一起,制备成辣根过氧化物酶标记的抗甲状腺素抗体,使用时用缓冲液稀释至工作浓度配制而成;具体方法为:

[0035] 称取 5mg 辣根过氧化物酶溶解于 1.2ml 三蒸水中,加入新鲜配制的 0.05mol/L 过碘酸钠溶液 0.5ml,室温振荡 30 分钟;然后用醋酸-醋酸钠缓冲液于 4℃透析过夜,加入 1mg 鼠抗甲状腺素单克隆抗体,室温振荡反应 3 小时;用 4mg/ml 的硼氢化钠 0.2ml 进行还原;经 0.02mol/L pH7.4 的磷酸盐缓冲液透析过夜后,离心去除沉淀,上清液即为酶标记物,等比例加入甘油,储存于 -20℃ 备用;辣根过氧化物酶标记的抗甲状腺素抗体工作溶液是用含 1% 牛血清白蛋白的 0.05M Tris-HCl 缓冲液稀释配制而成,稀释比例为 1:10000-1:20000;

[0036] 第四步,发光底物 A 液和发光底物 B 液的配制

[0037] 发光底物 A 液:由 luminol 0.15mM、羟基香豆素 0.59mM、没食子酸 0.35mM、pH 9.4 的 Tris-HCl 缓冲液 0.2M 配制而成;发光底物 B 液由氨基酸氧化酶 0.85mM、吐温-20 0.8% v/v、二乙烯三胺五乙酸 0.5mM、维生素 C 0.12mM、pH 6.5 的乙酸-乙酸盐缓冲液 0.2M 配制而成。

[0038] 第五步,浓缩洗液的制备

[0039] 浓缩洗液由 0.1M 磷酸盐缓冲液和 1% Tween-20 配制而成。

[0040] 本发明试剂盒的使用操作程序如下:

[0041] 一、实验准备:

[0042] 1. 取 1 瓶浓缩洗液按标签上标识的稀释要求稀释备用。

[0043] 2. 将恒温箱或恒温水浴锅温度调至 37℃,待温度稳定后使用。

[0044] 3. 将磁微粒混悬液充分混匀至无肉眼可见沉淀。

[0045] 二、实验操作:

[0046] 1. 取出一定量的反应容器,编号。前 6 孔依次加入 50 μl 校准品,其余孔依次加入 50 μl 样本。

[0047] 2. 摇匀磁微粒混悬液,每孔分别加入 20 μl。

[0048] 3. 每孔分别加入酶结合物 100 μl。

[0049] 4. 将反应容器内溶液混合均匀,37℃温育 15 分钟。

[0050] 5. 使用磁分离及洗涤设备,将反应容器中磁微粒用洗液洗涤 5 次。

[0051] 6. 将洗涤后的反应容器充分振荡使磁微粒散开。

[0052] 7. 每孔加入发光底物 A 和发光底物 B 各 50 μl,混匀后避光室温反应 5 分钟。

[0053] 8. 化学发光检测仪检测发光强度。

[0054] 三、本发明试剂盒在用于游离甲状腺素测定时的性能指标可达到如下状态:

[0055] 分析灵敏度——最低检出量低于 2.5pmol/L;

[0056] 校准曲线范围——0-100pmol/L；

[0057] 精密性——分析内精密度平均 4.40% (n = 10), 分析间精密度 5.58% (n = 3), 远高于国家标准, 表明本试剂盒在检测实验中具有良好的重复性；

[0058] 稳定性——将试剂盒放置于 37℃ 环境下考查加速稳定性 10 天, 试剂盒性能无明显改变。

[0059] 实验表明, 使用本试剂盒检测游离甲状腺素具有如下优点：

[0060] 1. 检测速度快, 稳定、无放射性污染等, 在没有磁场存在的情况下, 磁性微粒悬浮在液体中, 使得抗原抗体反应类似于均相反应；磁性微粒在外加磁场的作用下可方便地分离, 洗涤快速。。

[0061] 2. 磁性微粒做为免疫学载体, 可明显提高检测的精密性、稳定性。磁性微粒的粒径达到纳米级, 使得包被固相接近于液相状态, 相对微孔板式, 减少了包被, 封闭等多个影响精密性的操作步骤, 分析精密性和稳定性得到极大的提升。

[0062] 3. 本试剂盒组成简单, 操作方便, 结果稳定可靠, 相对市面上的酶联免疫试剂盒和板式化学发光试剂盒, 反应时间仅为其 1/8-1/4 的时间, 但试剂性能和操作简便性却不输于这些试剂盒。

专利名称(译)	以磁性微粒为固相载体检测游离甲状腺素的试剂盒及其制备方法		
公开(公告)号	CN101949945A	公开(公告)日	2011-01-19
申请号	CN201010243065.0	申请日	2010-08-03
[标]申请(专利权)人(译)	郑州安图绿科生物工程有限公司		
申请(专利权)人(译)	郑州安图绿科生物工程有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	郑州安图绿科生物工程有限公司		
[标]发明人	靳增明 陈晓玲 付光宇 渠海 马建军 项立红 吴学炜 苗拥军		
发明人	靳增明 陈晓玲 付光宇 渠海 马建军 项立红 吴学炜 苗拥军		
IPC分类号	G01N33/78 G01N33/577 G01N33/543 G01N33/535		
代理人(译)	王霞		
其他公开文献	CN101949945B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种以磁性微粒为固相载体检测游离甲状腺素的试剂盒，包括偶联有三碘甲状腺原氨酸-明胶复合物的磁微粒混悬液；游离甲状腺素系列校准品；辣根过氧化物酶标记的抗甲状腺素抗体溶液；发光底物A液和B液和浓缩洗液。本发明还公开了该试剂盒的制备方法。本发明的优点在于采用磁微粒化学发光法结合了磁微粒固相偶联技术，无磁场存在时，磁性微粒悬浮在液体中，抗原抗体反应类似于均相反应；磁性微粒在外加磁场的作用下方便分离，洗涤快速，做为免疫学载体，可提高检测的精密性、稳定性。本试剂盒组成简单，操作方便，结果稳定可靠，相对市面上的酶联免疫试剂盒和板式化学发光试剂盒，反应时间仅为其1/8-1/4的时间。