

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200610060896.8

[51] Int. Cl.

G01N 33/53 (2006.01)

G01N 33/52 (2006.01)

G01N 21/64 (2006.01)

[43] 公开日 2007年3月14日

[11] 公开号 CN 1928560A

[22] 申请日 2006.5.26

[21] 申请号 200610060896.8

[71] 申请人 深圳市新产业生物医学工程有限公司

地址 518057 广东省深圳市南山科技园科发
路 10 号维用科技 4 层

[72] 发明人 饶 微 宋洪涛 李婷华 邵 佳
阎 颖 王丽蓉 黄国光 刘海燕

[74] 专利代理机构 深圳中一专利商标事务所

代理人 张全文

权利要求书 2 页 说明书 11 页

[54] 发明名称

磁分离碱性磷酸酶标记的免疫分析试剂及其
分析测试方法

[57] 摘要

本发明提供一种磁分离碱性磷酸酶标记的免疫
分析试剂及其分析测试方法,所述的试剂包括碱性
磷酸酶标记物、磁分离试剂、FITC - 抗体标记物、
标准抗原或抗体和底物,其中磁分离试剂是羊抗异
硫氰酸荧光磺 FITC 包被的纳米磁性微珠,标记物是
碱性磷酸酶,底物是单磷酸酚酞 PMP、金刚烷及其
衍生物 AMPPD 或 APS - 5;根据本发明所述的试剂
和分析方法,试剂稳定、不污染,分析测试结果准
确、测试速度快。

1、 一种磁分离碱性磷酸酶标记的免疫分析试剂，包括标记物、磁分离试剂、FITC-抗体标记物、标准抗原或抗体和底物，其特征在于：所述的分离试剂是羊抗异硫氰酸荧光磺 FITC 包被的纳米磁性微珠，所述的纳米磁性微珠是里面包覆有 Fe_3O_4 或 Fe_2O_3 ，外面含有 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 或 $-\text{NH}_2$ 活性基团的微珠。

2、 根据权利要求 1 所述的磁分离碱性磷酸酶标记的免疫分析试剂，其特征在于：所述的纳米磁性微珠表面含有的活性基团含量是 $0.05-0.5\text{eqm/g}$ 。

3、 根据权利要求 2 所述的磁分离碱性磷酸酶标记的免疫分析试剂，其特征在于：所述的羊抗 FITC 包被的纳米磁性微珠是纳米磁性微珠与羊抗 FITC 的化学联接。

4、 根据权利要求 3 所述的磁分离碱性磷酸酶标记的免疫分析试剂，其特征在于：所述的标记物是碱性磷酸酶 AKP。

5、 根据权利要求 4 所述的磁分离碱性磷酸酶标记的免疫分析试剂，其特征在于：所述的底物包括显色底物单磷酸酚酞 PMP、发光底物金刚烷及其衍生物 AMPPD 或 APS-5 。

6、 磁分离碱性磷酸酶标记的免疫分析测试方法，其特征在于按以下步骤进行测试：

A、 将分别标记有碱性磷酸酶、FITC 的单克隆抗体和待测病人的血清混匀温育；

B、 再加入羊抗 FITC 包被多克隆抗体的免疫磁性微珠；

- C、 抗原-抗体复合物的特异性分离；
- D、 清洗后，加入显色底物单磷酸酚酞或发光底物；
- E、 温育过程中，加入碱性终止溶液后，碱性磷酸酶催化促使显色底物单磷酸酚酞呈粉红色；或碱性磷酸酶催化促使发光底物分解，持续恒定发光；
- F、 用测定仪测量反应产物的颜色强度或相对光强度，再根据标准抗原或抗体的浓度来得出待测物的结果。

7、 根据权利要求6所述的磁分离酶免疫分析测试方法，其特征在于：所述的抗原-抗体免疫复合物的特异性分离是以纳米磁性微珠为载体。

8、 根据权利要求7所述的磁分离酶免疫分析测试方法，其特征在于：所述的发光底物是金刚烷及其衍生物 AMPPD 或 APS-5。

9、 根据权利要求8所述的磁分离酶免疫分析测试方法，其特征在于：所述的抗原-抗体特异性复合物的分离是在单抗或抗原上标记 FITC，通过其与纳米磁性微珠结合，在外加磁场作用下实现分离。

磁分离碱性磷酸酶标记的免疫分析试剂及其分析测试方法

技术领域

本发明涉及一种免疫分析试剂及其测试方法，尤其是磁分离碱性磷酸酶标记的免疫分析试剂及其分析测试方法。

背景技术

目前，在中国临床上测量这些微量活性物质的方法主要有放射免疫分析方法、酶免疫分析方法、酶促化学发光或吡啶酯标记的直接化学发光方法、三联吡啶钉标记的电化学发光方法等；放免分析法是采用放射性同位素 I^{125} 作为示踪剂，标记在抗原或相应抗体上，在 γ 射线检测仪上，通过对 I^{125} 放射线强度的测定来确定待测物质的含量这种方法虽然较好地解决了微量活性物质的定量分析目的，但其存在的缺陷是很明显的：放射性同位素 I^{125} 作为示踪技术，在试剂的制造、贮存、应用操作过程中，对环境带来污染，给人体造成了严重的伤害；同时，由于 I^{125} 半衰期的限制，决定了放射免疫分析试剂的有效期只有一个月；分离过程的非特异性导致结果的准确率差，还不能做急诊标本；酶免疫分析方法是采用 HRP 辣根过氧化物酶作为发光标记物，塑料微孔板作为载体和分离技术，OPD 邻苯二胺等作为显色底物， $1M H_2SO_4$ 作为酶显色反应的终止溶液，通过测定酶反应产物波长在 492nm 处的吸光度值来分析待测物质的浓度，这种方法主要用来进行大批量人血清标本的定性筛查，其缺陷是显色产物的颜色强度随着时间的变化而变化，不能固定不变，显色底物 OPD 等是强致癌物，同时对相当一部分微量激素的灵敏度不够，反应时间太长，操作过程中难以规范化；另外，酶促化学发光或吡啶酯标记的直接化学发光方法主三联吡啶钉标记的电化学发光方法等在分析过程中带来试剂不稳定、分析结果准确率不高和测试速度不够快等缺陷，给准确分析微量活性物质的量带来了阻碍。

发明内容

本发明的目的是解决现有技术中存在免疫试剂不稳定、有污染的问题，提供一种试剂稳定、没有污染的磁分离碱性磷酸酶标记的免疫分析试剂。

本发明还提供一种分析准确、速度快的磁分离酶免疫分析测试方法。

为实现上述目的，本发明的技术方案是：

提供一种磁分离碱性磷酸酶标记的免疫分析试剂，包括标记物、分离试剂、FITC-抗体标记物、标准抗原或抗体和底物，其中：所述的分离试剂是羊抗异硫氰酸荧光磺 FITC 包被的纳米磁性微珠，所述的纳米磁性微珠是里面包覆有 Fe_3O_4 或 Fe_2O_3 ，外面含有 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 或 $-\text{NH}_2$ 活性基团的微珠。

所述的纳米磁性微珠表面含有活性基团的含量是 0.05-0.5eqm/g。

所述的羊抗 FITC 包被的纳米磁性微珠是纳米磁性微珠与羊抗 FITC 的化学联接。

所述的标记物是碱性磷酸酶 AKP。

所述的底物包括显色底物单磷酸酚酞 PMP、发光底物金刚烷及其衍生物 AMPPD 或 APS-5 。

本发明提供一种磁分离碱性磷酸酶标记的免疫分析测试方法，按以下步骤进行测试：

- A、将分别标记有碱性磷酸酶、FITC 的单克隆抗体和待测病人的血清混匀温育；
- B、再加入羊抗 FITC 包被多克隆抗体的免疫磁性微珠；
- C、抗原-抗体复合物的特异性分离；
- D、清洗后，加入底物单磷酸酚酞或 AMPPD、APS-5 等金刚烷及其衍生物溶液；
- E. 温育过程中，加入碱性终止溶液后，碱性磷酸酶催化促使显色底物单磷酸酚酞呈粉红色；或碱性磷酸酶催化促使发光底物分解，持续恒定发光；
- F、用测定仪测量反应产物的颜色强度或相对光强度，再根据标准抗原或抗

体的浓度来得出待测物的结果。

所述抗 FITC 抗体是以纳米磁性微珠为载体。

所述的发光底物是金刚烷及其衍生物 AMPPD 或 APS-5。

所述的抗原-抗体特异性复合物的分离是在单抗或抗原上标记 FITC，通过其与纳米磁性微珠结合，在外加磁场作用下实现分离。

本发明所述的磁分离免疫发光试剂及其制造方法，其技术效果有以下几方面：

1、 采用磁性微珠中抗体与待测标本中相应的抗原结合，在磁场力的作用下，待测组分与其它物质充分分离，不需要离心分离，是速度快且均匀的液相反应，灵敏度高，分析测试准确；由于纳米磁珠是用其包被抗体，因其表面积大，迅速捕捉抗原，所需标本量少，孵育时间大大缩减，测定时间减少，同时因其选择性吸附，可减少污染，降低交叉污染机率；

2、 采用碱性磷酸酶作为发光标记物，无放射危害，酶促显色反应结果稳定，不含致癌物质，无放射污染和危害，对实验室要求成本低，占用空间少；试剂的有效期长达 6 个月，可节约检测成本；

3、 磁分离酶免疫分析显色系统中，采用单磷酸酚酞作为底物，在碱性条件下，显色稳定，克服了 ELISA(酶免)的缺点；

4、 磁分离碱酶标记发光分析系统采用 AMPPD、APS-5 等金刚烷及其衍生物作为发光底物，其连续稳定的发光，极广泛的线性范围，彻底改变了传统发光标记物不可避免的发光不稳定，在反应过程发光裂变，导致结果不稳定等缺陷。

具体实施例

本发明中分析测试方法所用的分析仪，包括电源电路、自动注射泵 1 和 2、测量室、发光室、光电倍增管计数器和输出系统，同时还配置有计算机与中文界面的 Windows 控制软件，可进行资料录入、结果汇总、质量控制、结果储存

和结果查讯等功能，可完成多种分析模式的编程，定量或定性报告结果，自动生成并储存、更新功能，两点自动修正标准曲线。

实施例 1

一种磁分离碱性磷酸酶标记的免疫分析试剂，包括标记物、磁分离试剂、FITC-抗体标记物、标准抗原或抗体和底物，其所述的分离试剂是羊抗异硫氰酸荧光磺 FITC 包被的纳米磁性微珠，所述的纳米磁性微珠是里面包覆有 Fe_3O_4 或 Fe_2O_3 ，外面含有 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 或 $-\text{NH}_2$ 活性基团的微珠。本实例是以含有 $-\text{NH}_2$ 的基团的磁珠为例。

本实例以性腺八项（FSH、LH、E2、P、T、PRL、HCG、 β -HCG）为例

1、纳米磁性微珠表面包被羊抗 FITC 多克隆抗体的制备：

纳米磁性微珠的制备方法是按中国专利制备的，专利号为 CN92105584.6，磁珠里面包覆的是 Fe_2O_3 ，表面为含有 $-\text{NH}_2$ 的基团，其含量是 0.17eq/g；取 10ml 磁珠，浓度为 30mg/ml，用 pH7.4 的 PBS0.01M 清洗二遍，最后悬浮在 10ml0.01MPH7.4 的 PBS 中，加 50%戊二醛溶液 10-100 μ l，使戊二醛终浓度为 0.01-0.5%，加入纯化的羊抗 FITC IgG 抗体 100 μ g-1000 μ g，37 $^\circ\text{C}$ 反应 2 小时，在磁铁上去上清，用含 0.01-1%BSA 的 0.01MPH7.4 的 PBS 清洗三遍，最后悬浮在该溶液中，加入 0.01-0.5%的 NaN_3 。

2、FITC 标记 FSH、LH、E2、P、T、PRL、HCG、 β -HCG 单克隆抗体

取 10mg 待测物单克隆抗体，用 pH9.5 碳缓调体积到 1ml，加入 FITC100ug，置室温反应 20 小时，过 G-25 凝胶柱纯化。

3、磁分离碱性磷酸酶标记的免疫分析试剂制备及结果分析

取 FSH、LH、E2、P、T、PRL、HCG 和 β -HCG 标准品，血清标本各 20 μ l，加入标记物碱性磷酸酶和 FITC 单克隆抗体各 40 μ l，混匀后在 37 $^\circ\text{C}$ 的温度下温育，水浴 15 分钟；待免疫反应发生后加入表面包被羊抗 FITC 多克隆抗体的免疫纳米磁珠分离试剂 40 μ l，混匀，水浴 5 分钟，在外加磁场的作用下，上分离器分离 4 分钟，倒去上清；再加洗液 400 μ l，混匀，分离 4 分钟，倒去上清；

重复上述步骤分离一次后，直接将试管放入分析仪的测量室，自动泵泵入激发底物 AMPPD 或 APS-5 底物溶液，分析仪分析并打印出结果。

本发明是以碱性磷酸酶作为作为标记物，AMPPD、APS-5 等作为底物，在碱性磷酸酶的作用下，迅速去磷酸酶，生成不稳定的中间体 APMD，由它产生单线激发态产物，产生发光，用测定仪测量反应产物的相对光强度，再根据标准抗原或抗体的浓度来得出待测物的结果。

选择待测病人 796 例进行激素测定，经临床诊断继发闭经 232 例；原发闭经 8 例；月经稀发 130 例；闭经溢乳综合症 51 例；溢乳伴月经失调 32 例；多囊卵巢综合症 79 例；原发不孕 78 例；绝经后子宫出血、性发育异常、多毛、性早熟等其它病例 186 例，采用上述试剂及测试方法进行测试。

检测结果分以下几种类型：

1、 催乳素增高：(PRL正常参考值66-499uIU/ml；即3.3-24.5ng/ml)

291例闭经中溢乳51例，占17.58%(51/291)；闭经溢乳51例中PRL增高30例，占58.9%(30/51)；闭经291例中，PRL增高39例占总数13.44%(39/291)；溢乳89例无闭经患者38例占42.7%(38/89)；闭经无溢乳者239例中PRL增高9例，占闭经患者3.76%(9/239)；PRL增高患者中，FSH测定范围0.2-6.09mIU/ml；LH0.2-5.24mIU/ml；E₂5.0-33.92pg/ml，提示FSH、LH、E均为低值，高催乳素血症有随访者9例，服溴隐亭，定期复查PRL。

2、催乳素正常

		正常参考值		
	卵泡期	排卵期	黄体期	
FSH	3.2-10mIU/ml	7.5-20mIU/ml	1.3-11mIU/ml	
LH	1.2-12.5mIU/m	12-82mIU/ml	0.4-19mIU/ml	
E ₂	12-48pg/ml	153-237pg/ml	48-172pg/ml	

(1) 闭经：

A、FSH上升、LH上升或正常：33例，年龄20-42岁，平均31.48岁。

FSH 40.44-118.1mIU/ml

E2 5.0-52.95pg/ml

LH 12.60-31.71mIU/ml

提示FSH、LH上升，E₂降低，其中原发闭经2例，Turners综合症1例。2例除FSH、LH上升外，E₂ 136.7-164.2pg/ml，提示排卵期激素水平。

B、FSH、LH值均降低：共61例，其中希汉氏综合症4例，精神厌食症4例，原发性闭经3例

FSH 0.2-3.76mIU/ml

E₂ 5.0-61.95pg/ml

LH 0.2-3.76mIU/ml

提示FSH、LH均为低值。

C、LH上升、FSH上升降低：31例

LH 10.07-23.14mIU/ml

E₂ 17.71-86.93pg/ml

FSH 0.95-9.5mIU/ml

其中4例E₂ 0.08-304.5pg/m; P 12.76-21.07ng/ml, 3例提示为黄体期激素水平，1例证实为妊娠。

D、FSH、LH均在正常范围

E₂ 16.9-156.3pg/ml

E₂ 波动在卵泡期至排卵前水平。

(2) 多囊卵巢综合症(pcos): 共79例，年龄18-34岁，平均25.6岁。

68例:

FSH 0.42-7.99mIU/ml; 伴T增高9例

LH 2.3-20.19mIU/ml (正常参考值:10.7-132.2ng/dl)

提示LH升高或FSH、LH在正常范围

8例:

FSH 0.34-5.72mIU/ml

E2 105.1-368.9pg/ml

LH 0.2-16.3mIU/ml

P 6.09-19.73ng/ml

P正常参考值，黄体期为7.66-25.6ng/ml，提示黄体期激素水平。

3例:

FSH 4.54-9.7mIU/ml

E2 223.7-312.4pg/ml

LH 9.7-40.29mIU/ml

P 2.54-4.03ng/ml

提示排卵前激素水平。

(3) 月经稀发: 130例

93例:

FSH 0.27-9.35mIU/ml

E2 5.0-83.75pg/ml

LH 2.22-33.03mIU/ml

提示LH升高或FSH、LH在正常范围。

15例: E、P均增高

FSH 0.32-7.57mIU/ml

E2 92.91-345.2pg/ml

LH 0.2-16.63mIU/ml

P 6.36-23.74ng/ml

1例证实为早孕，其余提示为黄体期激素水平。

19例: E2升高或LH升高

FSH 1.17-7.57mIU/ml

E₂ 88.87-308.5pg/ml

LH 1.6-42.96mIU/ml

P 0.1-4.28ng/ml

提示排卵期前——排卵期激素水平

3例:

FSH 37.23-83.09mIU/ml

E₂ 5.0-33.10pg/ml

LH 15.6-43.44mIU/ml

提示卵巢功能衰退

从上述数据分析来看,用本明所述的磁酶免疫发光试剂及分析测试方法所得出的结果有很好的临床相符性,且测试速度快。

实施例 2

以甲状腺八项为例:

纳米磁性微珠表面包被羊抗 FITC 多克隆抗体的制备方法与实施例 1 相同,磁珠的表面为含有-COOH 的基团,其含量是 0.3eqm/g,显色底物是单磷酸酚酞,温育过程中,加入碱性终止溶液后,碱性磷酸酶催化促使显色底物单磷酸酚酞呈粉红色,用测定仪测量反应产物的颜色强度,再根据标准抗原或抗体的浓度来得出待测物的结果。

选择 40 份临床标本,采用上述方法进行分析测试,同时用放射免疫分析方法对 40 份临床标本进行对比,分析测试的结果如表 1:

	T3		T4		FT3		FT4		TSH		TGA		TMA		TRAb	
	本 发 明	放 免	本 发 明	放 免	本 发 明	放 免	本 发 明	放 免	本 发 明	放 免	本 发 明	放 免	本 发 明	放 免	本 发 明	放 免
	ng/ml		ng/ml		pg/ml		pg/ml		uIU/ml		IU/ml		IU/ml		IU/ml	
1	0.758	0.801	53.1	44.5	1.532	1.873	7.531	7.821	3.270	3.450	8.12	15%	4.33	10%	3.12	3.53
2	4.26	4.73	195.2	187.4	9.644	10.33	25.34	26.45	0.112	0.095	12.56	40%	9.38	25%	65.1	69.8
3	2.58	2.01	125.5	130.6	4.05	5.53	18.36	17.78	0.598	0.476	10.70	25%	6.74	12%	4.98	5.34
4	6.341	6.09	285.1	>240	19.65	18.32	32.20	39.53	0.078	0.130	29.31	50%	18.35	25%	112.5	121.3

5	8.155	9.89	247.7	>240	15.39	17.52	39.14	12.53	<0.03	0.101	45.3	59%	25.7	35%	89.7	93.5
6	7.763	7.75	>300	>240	19.56	25.16	60.95	>55	<0.03	0.07	8.9	30%	3.2	12%	4.52	6.13
7	8.414	8.42	>300	>240	18.67	20.11	42.6	48.33	0.058	0.01	85.6	70%	24.3	43%	182.3	189.9
8	1.56	1.87	85.6	88.2	2.17	2.35	11.21	13.47	3.25	4.16	11.30	29%	7.53	13%	0.98	1.12
9	1.740	1.81	79.65	84.38	3.003	3.202	12.49	13.18	0.782	0.72	4.56	16%	3.25	10%	2.35	3.12
10	1.169	1.03	40.23	37.38	3.996	4.14	6.395	6.081	23.25	29.27	3.54	15%	2.71	8%	5.01	6.13
11	>10	12.44	>300	>240	>25	>27	60	>55	<0.03	0.01	150	65%	96	49%	132.8	139.7
12	0.233	0.345	5.6	7.8	1.073	1.259	3.521	4.029	36.22	39.48	7.82	27%	4.78	11%	4.75	5.13
13	1.195	1.02	18.74	20.48	2.857	3.029	1.05	0.59	>50	>45	6.81	17%	2.95	8%	5.18	5.24
14	4.074	4.53	244.1	>240	>25	>27	51.46	51.68	0.063	0.02	72	82%	28	46%	75.1	79.8
15	1.469	1.617	121.7	136.5	1.897	2.319	10.98	12.18	1.773	1.559	5.01	22%	2.17	9%	6.32	7.01
16	1.935	1.887	98	101.5	3.986	4.67	9.272	10.02	1.063	0.83	4.05	11%	1.23	8%	6.11	6.98
17	5.74	6.82	296.5	>240	13.84	14.47	28.96	30.65	0.058	0.033	25.5	21%	15.1	7%	42.5	45.6
18	1.545	1.540	150	168	11.97	10.09	34.89	33.35	<0.03	0.012	79.6	45%	28.7	31%	6.23	7.45
19	0.520	0.783	49.8	50.32	1.031	1.540	6.983	7.829	5.43	6.08	6.59	23%	1.87	7%	4.25	4.98
20	1.635	1.822	116.4	126.5	2.607	2.54	9.891	10.08	1.726	1.630	6.19	22%	1.97	8%	3.96	5.12
21	9.156	10.99	247.7	>240	9.461	9.53	40.74	41.81	0.129	0.081	7.29	18%	4.65	10%	5.09	6.28
22	2.393	2.496	129.0	132.9	7.159	7.697	55.54	50.83	<0.03	0.012	89	24%	47	12%	78.6	82.4
23	1.781	1.882	117.6	120.3	1.919	1.993	10.92	10.41	3.405	4.08	7.2	16%	3.8	12%	4.32	5.18
24	0.917	1.006	99.23	92.9	2.766	3.08	13.43	14.38	1.421	1.29	4.3	10%	1.2	7%	4.95	5.23
25	4.943	5.061	237.8	231.4	6.12	6.20	21.7	23.5	0.58	0.24	11.0	35%	7.6	18%	1.02	2.53
26	9.53	9.01	198.1	200.3	10.81	12.95	31.0	29.4	0.01	0.02	4.52	28%	3.71	16%	0.95	0.82
27	>10	>10	245.6	>240	18.91	20.23	50.6	48.3	<0.03	0.01	>280	60%	>280	47%	>280	312.3
28	>10	>10	>300	>240	>25	26.7	31.3	37.9	<0.03	0.01	>280	72%	>280	49%	>280	>405
29	7.56	8.06	187.2	192.5	17.3	19.6	28.5	30.9	0.237	0.458	14.0	35%	8.1	22%	6.52	7.68
30	6.42	7.12	173.5	183.1	12.4	13.8	24.5	28.7	0.112	0.075	7.2	29%	1.8	10%	1.34	2.12
31	5.96	6.23	181.3	181.0	15.9	18.2	27.4	38.9	1.120	0.658	4.3	15%	1.9	6%	2.78	3.01
32	1.12	1.10	100.2	110.1	3.41	2.87	18.2	17.4	2.13	1.89	7.3	16%	2.8	7%	1.98	1.76
33	3.46	3.78	231.5	229.5	5.95	6.03	18.9	19.4	0.651	0.495	8.5	11%	1.1	12%	14.5	15.2
34	2.74	3.04	141.2	145.6	6.12	5.86	14.3	16.7	1.891	0.215	1.3	10%	0.8	8%	5.43	5.98
35	0.32	0.59	23	11	0.79	0.86	4.3	2.5	12.93	15.82	1.1	12%	0.3	9%	1.23	1.98
36	3.94	4.02	176	186	12.45	14.21	14.9	16.8	0.05	0.078	5.2	16%	1.2	19%	0.92	1.21
37	0.931	1.19	89	91	2.37	3.28	12.4	14.5	4.12	2.94	3.3	19%	0.4	18%	1.68	1.88
38	8.74	7.96	283	>240	21.5	23.1	31.6	35.9	<0.03	0.01	11.5	25%	6.3	30%	35.1	40.2
39	>10	>10	291.4	>240	20.1	18.7	41.8	38.7	<0.03	0.01	195	45%	87	60%	234.5	246.7
40	1.98	2.43	78.6	76.9	1.92	2.37	10.74	8.2	0.431	2.74	10.1	32%	0.8	5%	6.08	6.85

表 1

放免甲状腺八项正常值分别为

T3: 0.72-2.21ng/ml

T4:42-135ng/ml

FT3:1.54-5.01pg/ml

FT4:7.38-20.1pg/ml

TSH:0.35-4.4uIU/ml

TRAb:<6IU/ml

TGAb:≤30%

TPO(TM) Ab:≤20%

本发明甲状腺八项正常值分别为

T3: 0.69-2.15ng/ml	T4:52-127ng/ml
FT3:1.21-4.17pg/ml	FT4:7.2-17.2pg/ml
TSH:0.60-4.5uIU/ml	TRAb:<6IU/ml
TGAb: ≤9IU/ml	TMAb: ≤5IU/ml

放免的曲线范围为:

T3: 0.5-10ng/ml	T4:20-240ng/ml
FT3:1.0-27pg/ml	FT4:2-55pg/ml
TSH:0.35-45uIU/ml	TRAb:0.5-405IU/ml

本发明的曲线范围为:

T3: 0.5-10ng/ml	T4:10-3000ng/ml
FT3:1.21-4.17pg/ml	FT4:4-120pg/ml
TSH:0.5-50uIU/ml	TGA: 2-280IU/ml
TMA: 2-280IU/ml	TRAb:0.1-280IU/ml

甲状腺结果讨论:

(1) 经对表1结果的统计计算, 得回归线性方程, X:放免法;Y:本发明的磁酶免疫发光法.

$$T3: Y=0.927X+0.08, R=0.986, P<0.001$$

$$T4: Y=1.162X-15.49, R=0.976, P<0.001$$

$$FT3: Y=0.92X+0.107, R=0.991, P<0.001$$

$$FT4: Y=0.993X-0.741, R=0.980, P<0.001$$

$$TSH: Y=0.974X-0.0069, R=0.989, P<0.001$$

$$TRAb: Y=0.985X-1.982, R=0.999, P<0.001$$

结果表明: 对T3、T4、FT3、FT4、TSH和TRAb试剂, 两法高度相关, P值均<0.001, 表示两种方法具有可比性。

由于放免法的TGA、TMA试剂为定性判断试剂, 无法计算两法的线性回归方程,

但从阳性值来判断，40个标本中，仅有17#、22#、38#三个标本与放免试剂不符，其中17#和38#为阳性值附近的偏差，仅有22#差异较大，其两法阳性符合率为 $37/40=92.5\%$ 。

(2) 对T3来讲，3#、19#、40#三个标本两法不相符（从表1可知）其中3#和40#是在T3正常值上限附近的差异，而19#标本是在T3正常值下限附近的差异，两法符合率为92%。

对T4来讲，3#和19#在临床的阳性诊断不符，由于两法的阳性临界值不同而引起，也由于该测定值恰好处在T4正常值的不限，经计算，两法符合率在95%。

FT3、FT4计算出的符合率均在92.5%，TSH的两法符合率为92.5%，除了在临界附近，两法在甲亢病的诊断方面出现偏差外，对甲亢和甲减，正常人的测定两法具有很好的一致性，其诊断与临床完全相符。

专利名称(译)	磁分离碱性磷酸酶标记的免疫分析试剂及其分析测试方法		
公开(公告)号	CN1928560A	公开(公告)日	2007-03-14
申请号	CN200610060896.8	申请日	2006-05-26
[标]申请(专利权)人(译)	深圳市新产业生物医学工程股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	深圳市新产业生物医学工程有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	深圳市新产业生物医学工程有限公司		
[标]发明人	饶微 宋洪涛 李婷华 邵佳 阎颖 王丽蓉 黄国光 刘海燕		
发明人	饶微 宋洪涛 李婷华 邵佳 阎颖 王丽蓉 黄国光 刘海燕		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/52 G01N21/64		
代理人(译)	张全文		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供一种磁分离碱性磷酸酶标记的免疫分析试剂及其分析测试方法，所述的试剂包括碱性磷酸酶标记物、磁分离试剂、FITC - 抗体标记物、标准抗原或抗体和底物，其中磁分离试剂是羊抗异硫氰酸荧光磺 FITC包被的纳米磁性微珠，标记物是碱性磷酸酶，底物是单磷酸酚酞 PMP、金刚烷及其衍生物AMPPD或APS - 5；根据本发明所述的试剂和分析方法，试剂稳定、不污染，分析测试结果准确、测试速度快。

	T3		T4		FT3		FT4		TSH		TGA		TMA		TRAb	
	本 发 明	放 免	本 发 明	放 免	本 发 明	放 免	本 发 明	放 免	本 发 明	放 免	本 发 明	放 免	本 发 明	放 免	本 发 明	放 免
	ng/ml		ng/ml		pg/ml		pg/ml		uIU/ml		IU/ml		IU/ml		IU/ml	
1	0.728	0.801	53.1	44.5	1.502	1.473	7.501	7.821	3.270	3.450	8.11	15%	4.33	10%	3.12	3.53
2	4.26	4.73	195.2	187.4	9.664	10.33	25.34	26.45	0.112	0.095	12.56	40%	9.39	25%	65.1	69.8
3	2.58	2.41	155.5	130.6	4.05	5.51	18.16	17.78	0.568	0.476	10.70	25%	6.74	12%	4.98	5.34
4	6.911	6.09	285.1	200	19.65	18.32	32.20	35.51	0.076	0.130	29.31	50%	18.35	25%	111.5	121.3