



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109438539 A

(43)申请公布日 2019.03.08

(21)申请号 201811250849.9

G01N 33/543(2006.01)

(22)申请日 2018.10.25

G01N 33/74(2006.01)

G01N 35/00(2006.01)

(71)申请人 美康生物科技股份有限公司

地址 315104 浙江省宁波市鄞州区下应街
道启明南路299号

(72)发明人 邹炳德 邹继华 贾江花 翁梦燕
汪屹

(74)专利代理机构 宁波市鄞州甬致专利代理事
务所(普通合伙) 33228

代理人 沈春红

(51)Int.Cl.

C07J 7/00(2006.01)

C09K 11/06(2006.01)

G01N 21/76(2006.01)

G01N 33/532(2006.01)

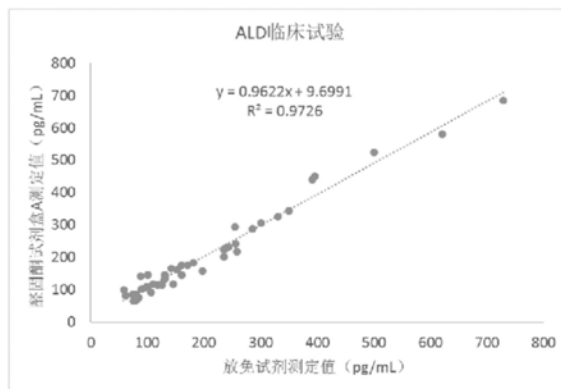
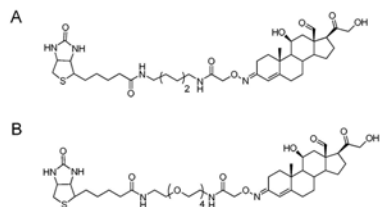
权利要求书3页 说明书8页 附图1页

(54)发明名称

醛固酮衍生物、含有其的化学发光免疫检测
试剂盒及其制备方法

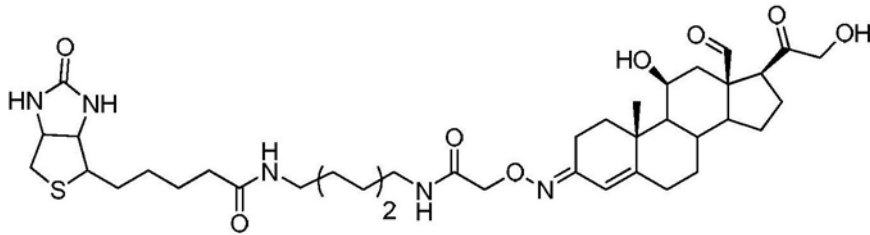
(57)摘要

一种醛固酮衍生物、含有其的化学发光免疫
检测试剂盒及其制备方法,本发明选择在醛固酮
的3-位进行修饰,制备醛固酮衍生物,该醛固酮
衍生物与抗醛固酮的单克隆抗体的结合能力更
强,能提高试剂的灵敏度及稳定性;该衍生物
的结构式为如下的A或B所示:

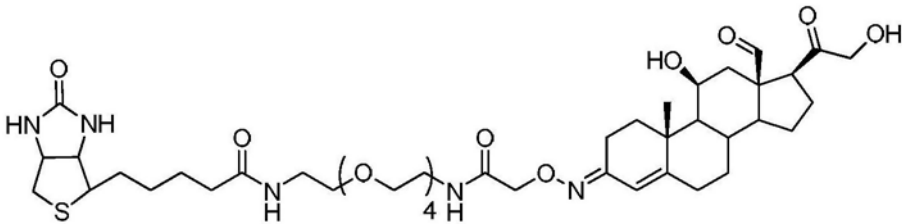


1. 一种醛固酮衍生物,其特征在于:该衍生物的结构式为如下的A或B所示:

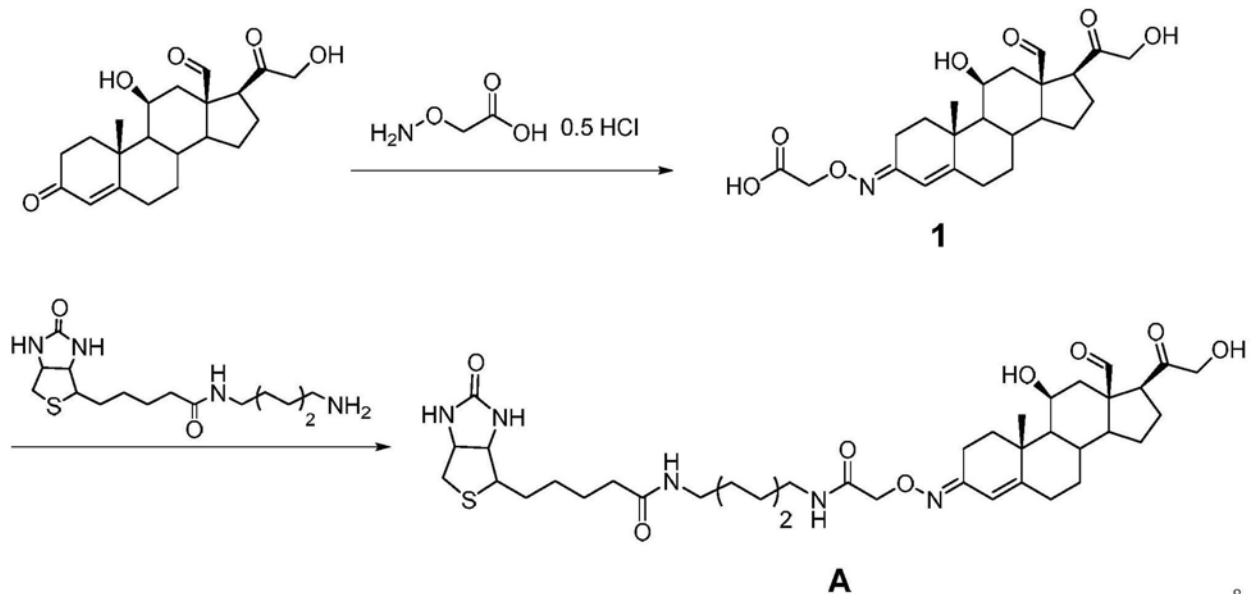
A



B



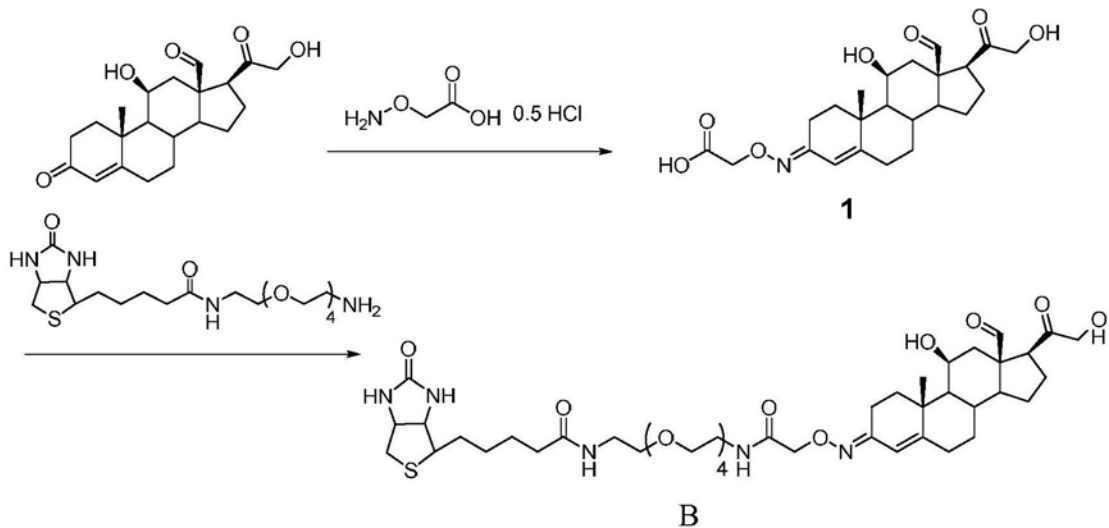
2. 根据权利要求1所述的醛固酮衍生物,其特征在于:所述的结构式为A的衍生物,其合成反应式为:



3. 根据权利要求2所述的醛固酮衍生物,其特征在于:所述的结构式为A的衍生物,其合成步骤包括:

- (1) 首先将醛固酮与O-(羧甲基)羟胺半盐酸盐发生反应,得到中间体1;
- (2) 然后将中间体1与生物素-己胺发生酰胺化反应,得到醛固酮衍生物A。

4. 根据权利要求1所述的醛固酮衍生物,其特征在于:所述的结构式为B的衍生物,其合成反应式为:



5. 根据权利要求4所述的醛固酮衍生物,其特征在于:所述的结构式为A的衍生物,合成步骤包括:

- (1) 将醛固酮与O-(羧甲基)羟胺半盐酸盐发生Schiff base反应,得到中间体1;
- (2) 中间体1与生物素-PEG₄胺发生酰胺化反应,得到醛固酮衍生物B。

6. 一种醛固酮化学发光免疫检测试剂盒,其特征在于:所述试剂盒包括:包被醛固酮衍生物的磁珠、化学发光标记物标记的抗醛固酮单克隆抗体、醛固酮置换剂、醛固酮校准品。

7. 根据权利要求6所述的醛固酮化学发光免疫检测试剂盒,其特征在于:所述的磁珠为偶联有链霉亲和素的磁微粒悬浮液,并具有0.1-5 μ m的粒径。

8. 根据权利要求6所述的醛固酮化学发光免疫检测试剂盒,其特征在于:所述的固酮衍生物为结构式A或结构式B,所述的化学发光标记物为吡啶酯。

9. 根据权利要求6所述的醛固酮化学发光免疫检测试剂盒,其特征在于:所述的醛固酮置换剂为:在含有质量百分比为3%的BSA的PBS溶液中,加入质量百分比为1%的ANS、质量百分比为2%的蛋白稳定剂配制得到;其中ANS和蛋白稳定剂的质量百分比为在最终醛固酮置换剂中的质量百分比含量;所述的醛固酮校准品是由校准品基质将醛固酮纯品配制成浓度为0pg/mL、25pg/mL、50pg/mL、100pg/mL、250pg/mL、500pg/mL、1000pg/mL,4 $^{\circ}$ C保存备用。

10. 一种醛固酮化学发光免疫检测试剂盒的配制方法,其特征在于:

- (1) 醛固酮衍生物包被的纳米磁微粒制备:

将磁珠在5mg/mL的浓度下用包被液清洗3-5遍后,按照1mg磁珠包被60 μ g生物素化的醛固酮衍生物的比例进行包被,包被条件是25 $^{\circ}$ C反应2h,分别包被衍生物A和B;包被结束后,用稀释液清洗该磁珠3-5遍,最后用稀释液将磁珠稀释到0.1mg/mL,即为磁微粒悬浮液;

包被液:在PBS溶液中加入0.1%BSA,0.1%叠氮钠,0.1%吐温20,pH7.4;

稀释液:在PBS溶液中加入3%BSA,0.1%叠氮钠,0.1%吐温20,pH7.4;

- (2) 醛固酮抗体标记吡啶酯的发光试剂的制备:

将醛固酮抗体透析在pH 8.5的碳酸钠-碳酸氢钠缓冲液中24h,每4小时更换一次透析液;透析后测定醛固酮抗体浓度,若大于1mg/mL,则用pH 8.5的碳酸钠-碳酸氢钠缓冲液稀释到1mg/mL,若<1mg/mL,则需要浓缩后再用pH 8.5的碳酸钠-碳酸氢钠缓冲液稀释到1mg/mL;将醛固酮抗体和吡啶酯按照1:15的摩尔比,进行标记,将计算好的吡啶酯量直接加入到1mg/mL的醛固酮抗体透析液中,25 $^{\circ}$ C避光反应2h;标记后,将未结合上的吡啶酯进行脱盐处

理;提前将脱盐柱用PBS进行洗脱平衡,将标记后的醛固酮抗体上样后,再用PBS进行洗脱,收集,得到吡啶酯标记的醛固酮抗体;最后,进行发光试剂的配制,将吡啶酯标记的醛固酮抗体用稀释液稀释到5ng/mL,即为醛固酮抗体标记吡啶酯的发光试剂;

(3) 醛固酮置换剂的制备:

在含有质量百分比为3%的BSA的PBS溶液中,加入质量百分比为1%的ANS、质量百分比为2%的蛋白稳定剂;其中ANS和蛋白稳定剂的质量百分比为在最终醛固酮置换剂中的质量百分比含量。

(4) 醛固酮校准品的制备:

醛固酮校准品是由校准品基质将醛固酮抗原配制成浓度为0pg/mL、25pg/mL、50pg/mL、100pg/mL、250pg/mL、500pg/mL、1000pg/mL,4℃保存备用。

醛固酮衍生物、含有其的化学发光免疫检测试剂盒及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及体外诊断技术领域,具体涉及一种醛固酮衍生物、含有其的化学发光免疫检测试剂盒及其制备方法。

背景技术

[0002] 醛固酮(aldosterone,ALD)是由肾上腺皮质球状带细胞合成和分泌的一种盐皮质激素,具有代表性的强电解质代谢作用。其作用是促进 Na^+ 在体内贮留,同时排出 K^+ ,维持电解质平衡与体液容量恒定,此外醛固酮还能作用于髓质集合管,促进 H^+ 的排泄,酸化尿液。醛固酮的分泌是通过肾素-血管紧张素系统来实现的,当细胞外液容量下降时,刺激肾小球旁细胞分泌肾素,激活肾素-血管紧张素系统,醛固酮分泌增加,使肾脏重吸收钠增加,进而引起水重吸收增加,细胞外液容量增多;相反细胞外液容量增多时,通过上述相反的机制,使醛固酮分泌减少,肾重吸收钠水减少,细胞外液容量下降。血钠降低,血钾升高同样刺激肾上腺皮质,使醛固酮分泌增加。

[0003] 血清中ALD水平的检测,对于原发性醛固酮增多症的诊断和疗效观察、Addisons症(阿狄森氏病又称原发性慢性肾上腺皮质机能减退症)的诊断及肾上腺皮质增生、继发性醛固酮增多症等的鉴别诊断具有重要的临床价值。

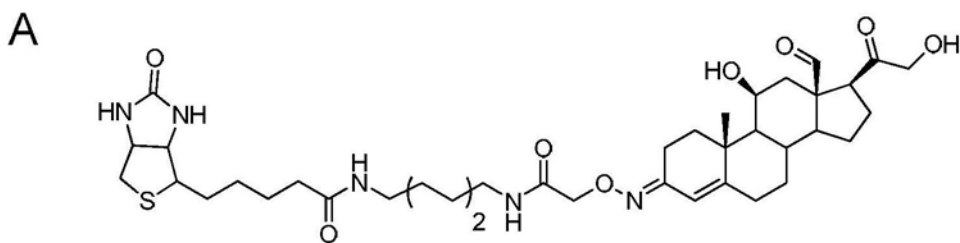
[0004] 目前临床检测醛固酮的方法主要是放射免疫法(RIA)和酶联免疫法(ELISA),但这些方法都存在着一些不足之处。例如,放射性免疫法存在放射性污染、标记物半衰期短、对操作者具有放射性损伤,且操作繁琐,耗时长,灵敏度低,检测范围窄,且不能实现全自动化;由于酶促反应不够彻底,使得酶联免疫法易受外部因素干扰,造成检测时特异性低、灵敏度差、检测范围窄等缺点。

[0005] 化学发光免疫分析法(CLIA)是将化学发光与免疫分析结合发展的一种新型的检测方法,具有检测灵敏度高(检测极限 10^{-17} — 10^{-19})、可测定物质浓度范围宽、试剂有效期长、操作简单快速、稳定性好、安全无环境污染等优点,目前已广泛应用到基础和临床医学的各个领域,成为取代放射免疫法和酶联免疫法的首选技术。但目前利用化学发光免疫分析法测定醛固酮的灵敏度普遍较低,检测线性范围较窄。

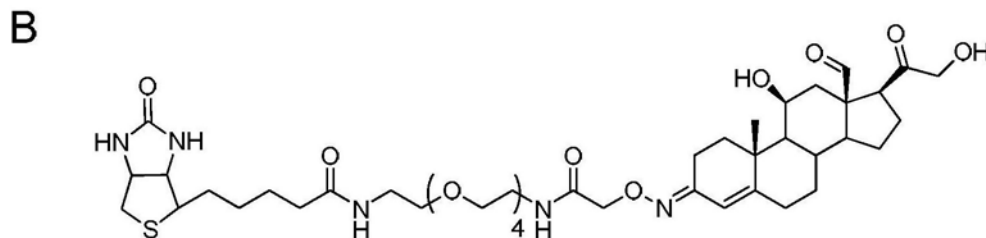
发明内容

[0006] 本发明针对现有技术的上述不足,提供一种与醛固酮单克隆抗体的结合能力强的醛固酮衍生物。

[0007] 为了解决上述技术问题,本发明采用的技术方案为:一种醛固酮衍生物,该衍生物的结构式为A或B所示:

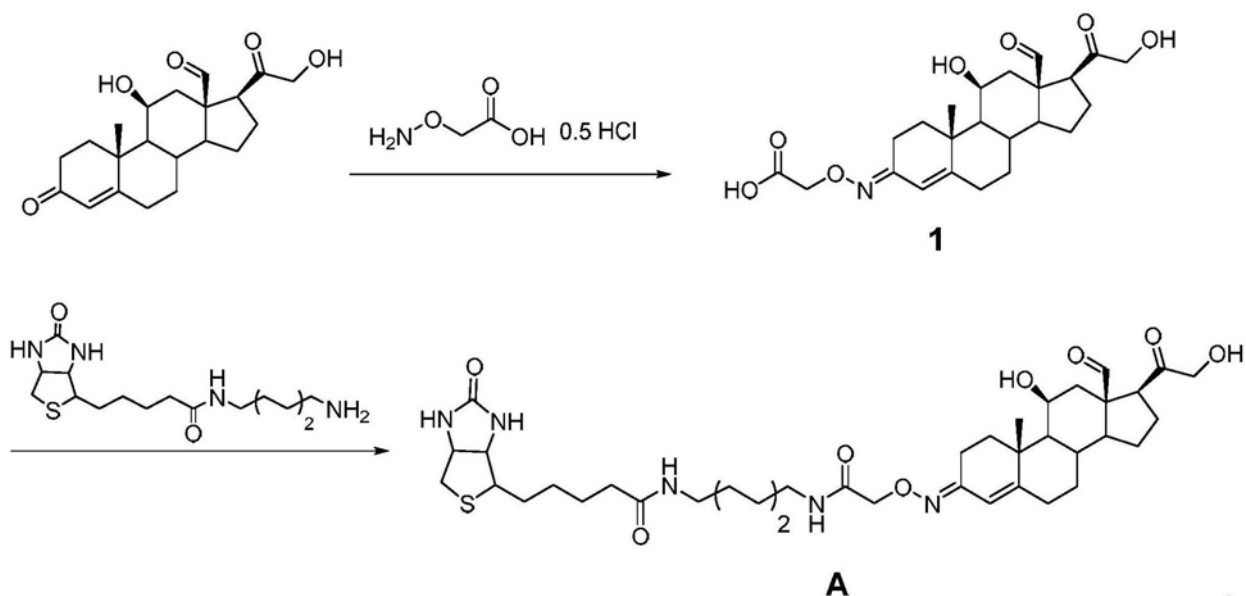


[0008]



[0009] 本发明所述的醛固酮衍生物A,其合成反应式为:

[0010]



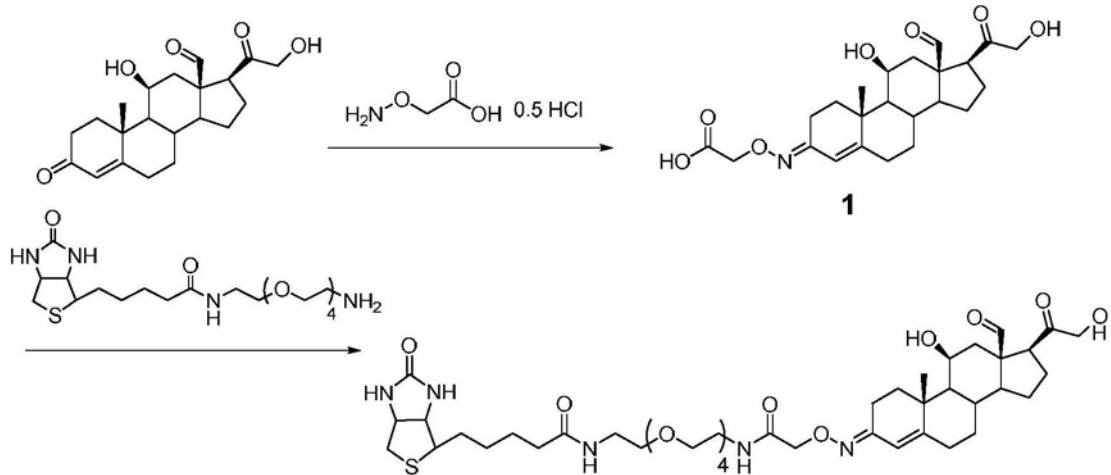
[0011] 本发明上述的醛固酮衍生物A的合成步骤,具体包括:

[0012] (2) 醛固酮与O-(羧甲基)羟胺半盐酸盐发生反应,得到中间体1;

[0013] (2) 中间体1与生物素-己胺发生酰胺化反应,得到醛固酮衍生物A。

[0014] 本发明所述的醛固酮衍生物B,其合成反应式为:

[0015]



[0016] 本发明上述的醛固酮衍生物B的合成步骤,具体包括:

[0017] (1) 醛固酮与O-(羧甲基)羟胺半盐酸盐发生Schiff base反应,得到中间体1;

[0018] (2) 中间体1与生物素-PEG₄胺发生酰胺化反应,得到醛固酮衍生物B。

[0019] 本发明还提供一种醛固酮化学发光免疫检测试剂盒,所述试剂盒包括:包被醛固酮衍生物的磁珠、化学发光标记物标记的抗醛固酮单克隆抗体、醛固酮置换剂、醛固酮校准品。

[0020] 本发明所述的磁珠为偶联有链霉亲和素的磁微粒悬浮液,其中的磁珠可以是四氧化三铁,并偶联后的磁微粒的粒径为0.1-5 μ m。

[0021] 本发明所述的固酮衍生物为结构式A或结构式B。

[0022] 本发明所述的化学发光标记物为吡啶酯。

[0023] 本发明所述的醛固酮置换剂为:在含有质量百分比为3%的BSA(牛血清白蛋白)的PBS溶液(磷酸盐缓冲溶液)中,加入质量百分比为1%的ANS(8-苯胺-1-萘磺酸)、质量百分比为2%的蛋白稳定剂配制得到;其中ANS和蛋白稳定剂的质量百分比为在最终醛固酮置换剂中的质量百分比含量。

[0024] 本发明所述的醛固酮校准品是用校准品基质将醛固酮纯品配制成浓度为0pg/mL、25pg/mL、50pg/mL、100pg/mL、250pg/mL、500pg/mL、1000pg/mL,4 $^{\circ}$ C保存备用;具体的校准品基质为:50mM PBS+30%小牛血清+0.05%PC300+0.05%吐温20+10%海藻糖。

[0025] 本发明所述的试剂盒,其配制方法包括醛固酮衍生物包被的磁珠固相试剂的制备、吡啶酯标记的抗醛固酮单克隆抗体的制备、醛固酮置换剂的制备、醛固酮校准品的制备。

[0026] 本发明的优点和有益效果:

[0027] 1. 本发明选择在醛固酮的3-位进行修饰,制备醛固酮衍生物,该醛固酮衍生物与抗醛固酮的单克隆抗体的结合能力更强,能提高试剂的灵敏度及稳定性。

[0028] 2. 本发明选择吡啶酯作为化学发光标记物,该发光体系为直接化学发光,与酶促化学发光体系相比,该反应不需要酶的参与,更加节约成本;

[0029] 3. 本发明选用醛固酮衍生物包被的磁微粒,检测灵敏度高,能够达到50pg/mL,相比其它的醛固酮检测方法灵敏度至少提高了10倍;

[0030] 4. 本发明的化学发光免疫分析系统已经实现全自动化,试剂及样本的添加全有仪

器完成,操作简单,减少了人为的误差。

[0031] 5. 本发明的用于检测ALD的化学发光免疫检测试剂盒,其优点是检测灵敏度高、准确性好、线性范围广、重复性好、稳定性好、操作简单、干扰小。本发明制备的ALD化学发光免疫试剂盒,主要包括:醛固酮衍生物包被的磁微粒、吡啶酯标记的醛固酮抗体(化学发光标记物标记的抗醛固酮的单克隆抗体)及醛固酮校准品;然后利用全自动化学发光分析仪对校准品进行检测,拟合出校准曲线,内置电脑软件,测试临床样本,根据样本的发光值和拟合的校准曲线计算样本的浓度;最后对醛固酮全自动化学发光免疫分析仪进行了灵敏度、准确度、精密度、线性范围、稳定性、抗干扰性等性能的验证,各项性能都比较理想。

附图说明

[0032] 图1是本发明的醛固酮试剂盒A放免法试剂盒测定临床样本的结果比对图,其中纵坐标为本发明试剂盒的测值,横坐标为放免试剂盒测定醛固酮值,其相关系数为0.9726,直线方程 $y=0.9622x+9.6991$ 。

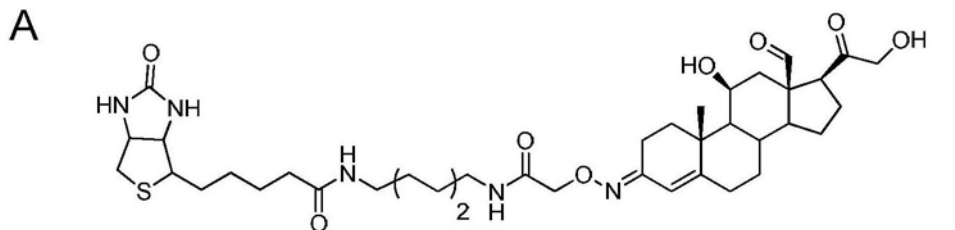
[0033] 图2是本发明的醛固酮试剂盒B与放免法试剂盒测定临床样本的结果比对图,其中纵坐标为本发明试剂盒的测值,横坐标为放免试剂盒测定醛固酮值,其相关系数为0.9358,直线方程 $y=1.0172x-5.8866$ 。

具体实施方式

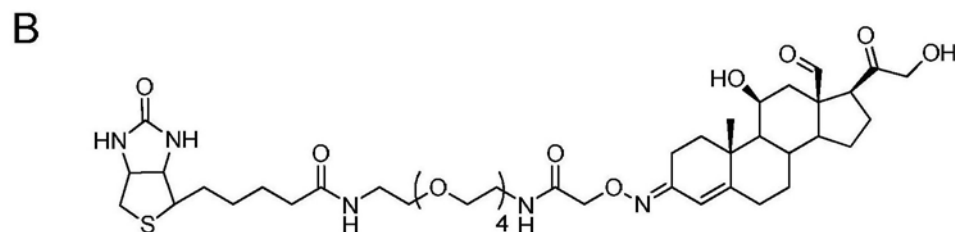
[0034] 下面通过实施例进一步详细描述本发明,但是本发明不仅仅局限于以下实施例。

实施例1

[0035] 醛固酮衍生物的合成,醛固酮衍生物的结构如下面的A或B所示,



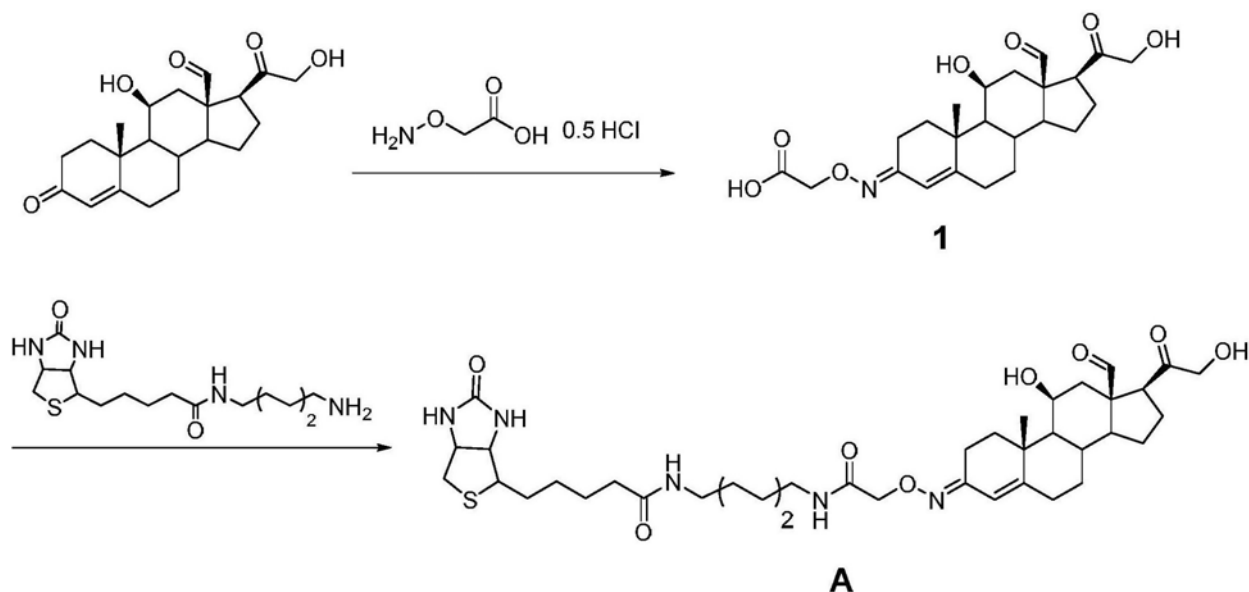
[0036]



[0037] 所示醛固酮衍生物的合成包括醛固酮衍生物A的合成以及醛固酮衍生物B的合成:

[0038] (1) 醛固酮衍生物A的合成,其合成路线如下所示,

[0039]



[0040] 具体的合成步骤如下：

[0041] 化合物1的合成：

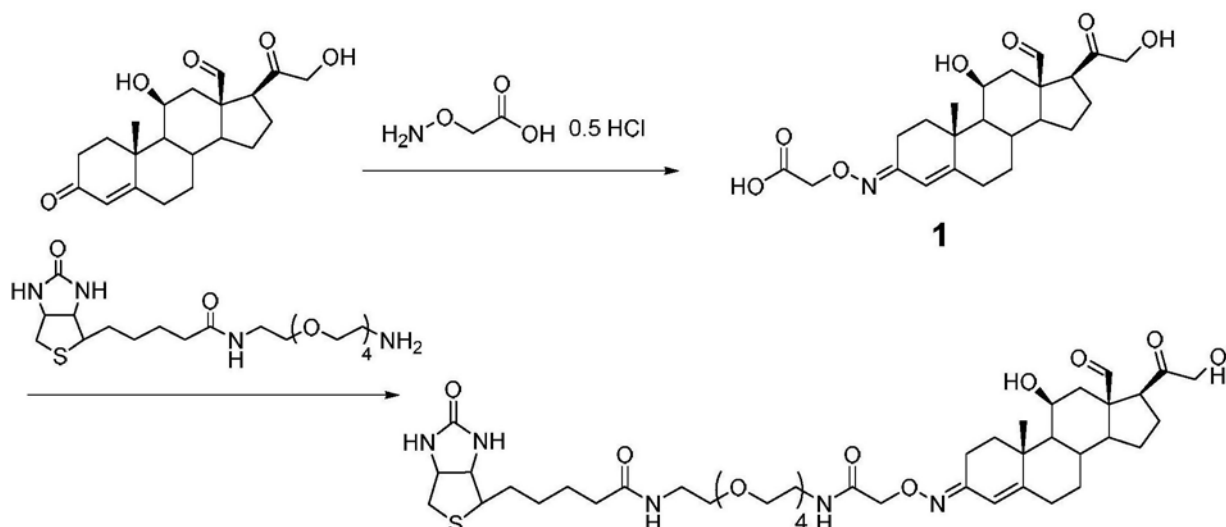
[0042] 称取13.0g醛固酮至500mL反应瓶中，加入300mL MeOH(甲醇)，25℃下搅拌5分钟使其溶解均匀；向反应瓶中加入4.3mL吡啶，4.7g O-(羧甲基)羟胺半盐酸盐(O-羧甲基羟胺半盐酸盐.CAS:2921-14-4,羧甲基羟胺半盐酸盐)，25℃下继续反应1-2小时，通过TLC监测反应过程直至完全。反应结束，浓缩旋干反应液，通过SiO₂柱层析纯化，得到白色固体的化合物1(12.8g,82.1%)。

[0043] 醛固酮衍生物A的合成：

[0044] 称取12.0g化合物1至500mL反应瓶中，加入200mL DMF,25℃下搅拌5分钟使其溶解均匀；向反应瓶中加入15.8g 2-(7-氧化苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸酯(HATU),13.7mL N,N-二异丙基乙胺(DIEA),25℃下反应30min,再向反应瓶中加入11.4g生物素-己胺,25℃下反应12小时,通过TLC监测反应过程直至完全。反应结束,浓缩旋干反应液,通过SiO₂柱层析纯化,得到白色固体的醛固酮衍生物A(15.2g,72.6%);醛固酮衍生物A谱图数值为:¹H NMR(500MHz,DMSO-d₆) δ9.58(t,J=1.7Hz,1H),7.97-7.90(m,1H),7.53(t,J=6.7Hz,1H),6.62(d,J=7.5Hz,1H),5.92(d,J=7.1Hz,1H),5.82(t,J=1.0Hz,1H),4.88(t,J=6.8Hz,1H),4.70(s,2H),4.46(d,J=8.0 Hz,1H),4.38(p,J=7.1Hz,1H),4.26-4.12(m,4H),3.15-2.99(m,5H),2.91(dd,J=12.3,7.0Hz,1H),2.76(dd,J=12.5,7.0Hz,1H),2.71-2.62(m,3H),2.55-2.44(m,1H),2.27(qd,J=7.0,1.7Hz,1H),2.18(t,J=7.2Hz,2H),2.04(dd,J=12.4,7.0Hz,1H),1.91(dt,J=12.5,6.9Hz,2H),1.88-1.83(m,1H),1.86-1.81(m,2H),1.83-1.75(m,3H),1.75-1.63(m,2H),1.65-1.56(m,3H),1.58-1.26(m,13H),1.11(d,J=1.2Hz,4H).ESI-MS:m/z calcd[M+H]⁺+758.42,found 758.38,证实获得的产物即为目标产物。

[0045] (2) 醛固酮衍生物B的合成,其合成路线如下式所示,

[0046]



[0047] 醛固酮衍生物B具体的合成步骤如下：

[0048] 称取12.0g化合物1至500mL反应瓶中,加入200mL DMF,25℃下搅拌5分钟使其溶解均匀;向反应瓶中加入15.8g 2-(7-氧化苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸酯 (HATU,CAS号:148893-10-1),13.7mL N,N-二异丙基乙胺 (DIEA),25℃下反应30min,再向反应瓶中加入15.4g生物素-PEG4胺 (CAS No.:663171-32-2,(+)-Biotin-PEG4-amine,(3AS,4S,6AR)-N-(14-氨基-3,6,9,12-四氧杂十四烷-1-基)六氢-2-氧代-1H-噻吩并[3,4-D]咪唑-4-戊酰胺,生物素四聚乙二醇氨基),25℃下反应12小时,通过TLC监测反应过程直至完全。反应结束,浓缩旋干反应液,通过SiO₂柱层析纯化,得到白色固体的醛固酮衍生物B(16.6g,68.3%);醛固酮衍生物B谱图数值为:¹H NMR(500MHz,DMSO-d₆) δ 9.58(t,J=1.7Hz,1H),7.97(t,J=6.9Hz,1H),7.70(t,J=6.8Hz,1H),6.61(d,J=7.5Hz,1H),6.01(d,J=7.1Hz,1H),5.82(t,J=0.9Hz,1H),4.88(t,J=6.8Hz,1H),4.70(s,1H),4.48-4.34(m,2H),4.27-4.20(m,2H),4.20-4.15(m,1H),4.18-4.11(m,1H),3.73-3.50(m,18H),3.45-3.28(m,4H),3.10(q,J=7.1Hz,1H),2.91(dd,J=12.3,7.0Hz,1H),2.76(dd,J=12.5,7.0Hz,1H),2.71-2.62(m,3H),2.55-2.44(m,1H),2.29(qd,J=7.1,1.8Hz,1H),2.23-2.13(m,2H),2.04(dd,J=12.5,7.0Hz,1H),1.97-1.69(m,9H),1.72-1.62(m,2H),1.62(d,J=3.9Hz,1H),1.62-1.55(m,2H),1.57-1.42(m,3H),1.36(dp,J=12.5,7.1Hz,1H),1.16-1.09(m,4H)。ESI-MS:m/z calcd[M+H]⁺878.46,found 878.90;证实获得的产物即为目标产物。

[0049] 实施例2:醛固酮化学发光免疫检测试剂盒制备方法

[0050] (1) 醛固酮衍生物包被的纳米磁微粒制备:

[0051] 将四氧化三铁磁珠在5mg/mL(即磁珠在包被清洗液中的浓度)的浓度下用包被液清洗3-5遍后(即每毫升的包被液中放置5mg的磁珠),按照1mg磁珠包被60ug生物素化的醛固酮衍生物(生物素化的醛固酮衍生物即为醛固酮衍生物A或B)的比例进行包被,包被条件是25℃反应2h,分别包被衍生物A和B。包被结束后,用稀释液清洗该磁珠3-5遍,得到粒径0.1-5μm的包被磁珠,最后用稀释液将磁珠稀释到0.1mg/mL,即为磁微粒悬浮液。

[0052] 包被液:在PBS溶液中加入0.1%BSA,0.1%叠氮钠,0.1%吐温20,pH7.4(上述各组分含量为最终的包被液中的质量百分比含量)。

[0053] 稀释液：在PBS溶液中加入3%BSA,0.1%叠氮钠,0.1%吐温20,pH7.4(上述各组分含量为最终的稀释液中的质量百分比含量)。

[0054] (2) 醛固酮抗体标记吖啶酯的发光试剂(化学发光标记物标记的抗醛固酮单克隆抗体)的制备：

[0055] 将醛固酮抗体透析在pH 8.5的碳酸钠-碳酸氢钠缓冲液(即CB buffer PH 8.5)中24h,每4小时更换一次透析液。透析后测定醛固酮抗体浓度,若大于1mg/mL,则用CB buffer PH 8.5稀释到1mg/mL,若<1mg/mL,则需要浓缩后再用CB buffer PH 8.5稀释到1mg/mL。将醛固酮抗体和吖啶酯按照1:15的摩尔比,进行标记,将计算好的吖啶酯量直接加入到1mg/mL的醛固酮抗体透析液中,25℃避光反应2h。标记后,将未结合上的吖啶酯进行脱盐处理。提前将脱盐柱用PBS进行洗脱平衡,将标记后的醛固酮抗体上样后,再用PBS进行洗脱,收集,得到吖啶酯标记的醛固酮抗体。最后,进行发光试剂的配制,将吖啶酯标记的醛固酮抗体用稀释液(此处的稀释液与步骤(1)的稀释液相同:在PBS溶液中加入3%BSA,0.1%叠氮钠,0.1%吐温20,pH7.4(上述各组分含量为最终的稀释液中的质量百分比含量))稀释到5ng/mL,即为醛固酮抗体标记吖啶酯的发光试剂。

[0056] (3) 醛固酮置换剂的制备：

[0057] 在含有质量百分比为3%的BSA(牛血清白蛋白)的PBS溶液(磷酸盐缓冲溶液)中,加入质量百分比为1%的ANS(8-苯胺-1-萘磺酸)、质量百分比为2%的蛋白稳定剂 配制得到;其中ANS和蛋白稳定剂的质量百分比为在最终醛固酮置换剂中的质量百分比含量。

[0058] (4) 醛固酮校准品的制备：

[0059] 醛固酮校准品是由校准品基质将醛固酮抗原配制成浓度为0pg/mL、25pg/mL、50pg/mL、100pg/mL、250pg/mL、500pg/mL、1000pg/mL,4℃保存备用。

[0060] (5) 化学发光预激发液的制备：

[0061] 量取1.0L纯化水,依次加入80uL质量分数为20%的双氧水,1mL的PC300,1.2g吐温20,摇匀后避光存放。

[0062] (6) 化学发光激发液的制备：

[0063] 量取1.0L纯化水,依次加入0.5g氢氧化钠、0.5mL PC300、0.5g叠氮化钠、1.6g 曲拉通100,摇匀后避光存放。

[0064] 实施例三:醛固酮化学发光免疫检测方法

[0065] 本发明以全自动化学发光免疫分析仪作为检测工具,本发明的方法学模式是竞争法,即仪器依次加入80uL的样本、50uL的置换剂及50uL醛固酮抗体标记的发光试剂,孵育20min,再加入50uL醛固酮衍生物包被的固相试剂(醛固酮衍生物包被的纳米磁微粒),孵育10min后,进行磁分离,仪器将反应混合物送入清洗装置清洗,清洗3遍后,依次加入200uL化学发光预激发液和200uL化学发光激发液进行发光反应,最后由软件出发光信号RLU,经过软件计算,从标准曲线计算出被测样品的醛固酮含量。

[0066] 实施例四:醛固酮化学发光免疫检测试剂盒的性能评价

[0067] 分别将醛固酮衍生物A和B包被的纳米磁微粒,配成两组固相试剂A和固相试剂B,分别与发光试剂、置换剂配对,构成试剂盒A和试剂盒B,分别对这两组试剂盒的性能进行验证。

[0068] (1) 灵敏度验证：

[0069] 参照CLSI EP17-A文件推荐实验方案,计算醛固酮试剂盒A和B的灵敏度,均可以做到5pg/mL。

[0070] (2) 线性的验证:

[0071] 对浓度1000pg/mL,500pg/mL,250pg/mL,100pg/mL,50pg/mL,25pg/mL标准品做线性分析,计算线性相关系数,试剂盒A的 $r=0.9995$,试剂盒B的 $r=0.9990$ 。

[0072] (3) 精密度测定:

[0073] 取浓度为50pg/mL,800pg/mL的两个醛固酮样品,分别用试剂盒A和B重复测定这两个样本25遍,计算精密度,结果表明,这两个试剂盒的CV均小于5%。

[0074] (4) 干扰实验:

[0075] 取混合血清分别添加干扰物质包括:结合胆红素、游离胆红素、血红蛋白、抗坏血酸、甘油三酯,添加比例按照1:19进行,分别测定对照及干扰样本,计算两者的偏差,结果表明,醛固酮试剂盒A和B的抗干扰偏差均在10%以内。

[0076] (5) 临床样本比对:

[0077] 分别用醛固酮放免法检测试剂盒、本发明醛固酮检测试剂盒A和B检测临床样本43份,得到临床比对数据,具体可参考附图1和附图2,结果表明,临床样本比对相关性稀释大于0.9,且斜率在0.85-1.15之间。

[0078] 通过上述检测可以得到:本发明的醛固酮衍生物与抗醛固酮的单克隆抗体的结合能力强,因此能够有效的提高灵敏度,检测线性范围更宽。

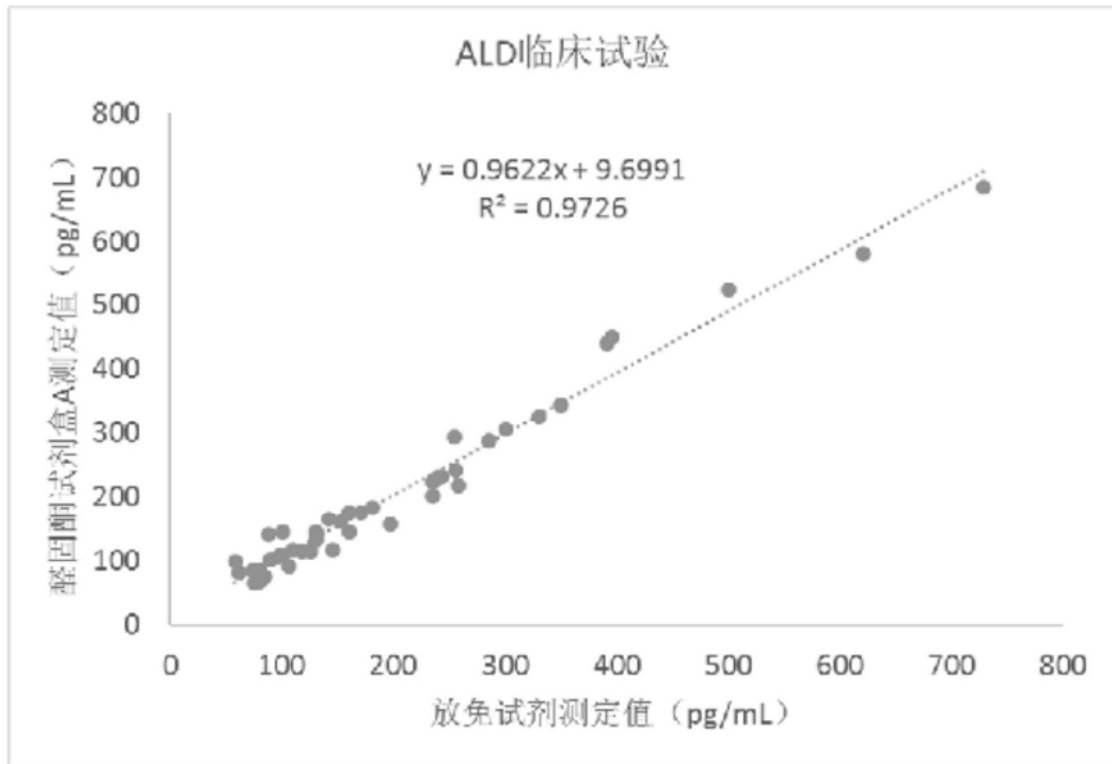


图1

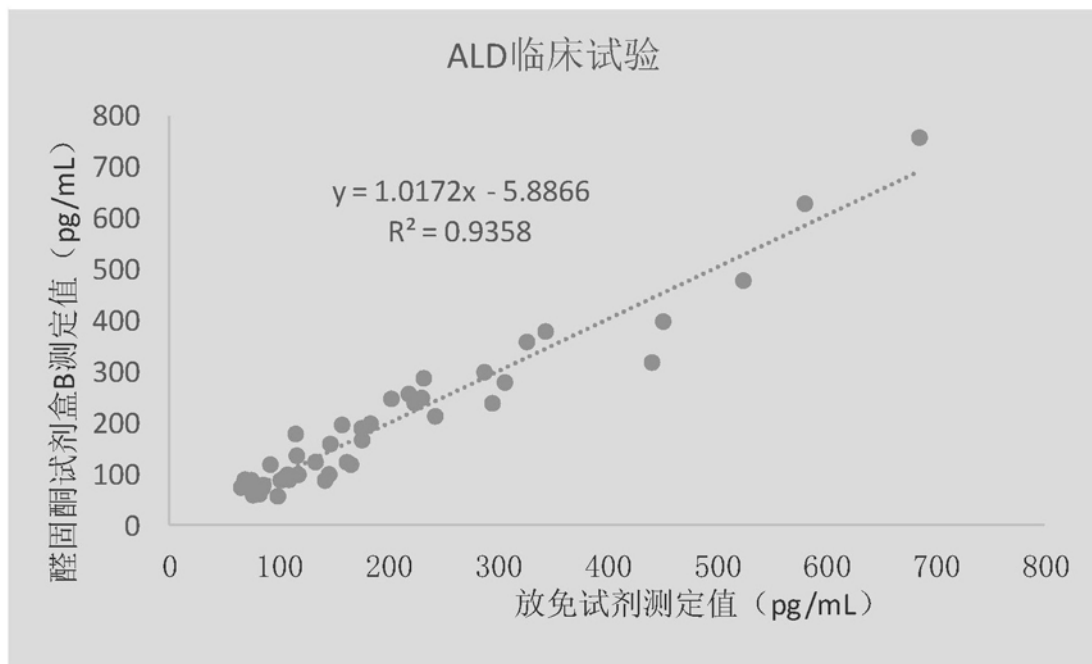


图2

专利名称(译)	醛固酮衍生物、含有其的化学发光免疫检测试剂盒及其制备方法		
公开(公告)号	CN109438539A	公开(公告)日	2019-03-08
申请号	CN201811250849.9	申请日	2018-10-25
[标]申请(专利权)人(译)	美康生物科技股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	美康生物科技股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	美康生物科技股份有限公司		
[标]发明人	邹炳德 邹继华 贾江花 汪屹		
发明人	邹炳德 邹继华 贾江花 翁梦燕 汪屹		
IPC分类号	C07J7/00 C09K11/06 G01N21/76 G01N33/532 G01N33/543 G01N33/74 G01N35/00		
CPC分类号	C07J7/008 C09K11/06 C09K2211/1011 C09K2211/1044 C09K2211/1092 G01N21/76 G01N33/532 G01N33/54326 G01N33/74 G01N35/00		
代理人(译)	沉春库雷尼		
其他公开文献	CN109438539B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种醛固酮衍生物、含有其的化学发光免疫检测试剂盒及其制备方法，本发明选择在醛固酮的3-位进行修饰，制备醛固酮衍生物，该醛固酮衍生物与抗醛固酮的单克隆抗体的结合能力更强，能提高试剂的灵敏度及稳定性；该衍生物的结构式为如下的A或B所示：

